



Interactive Effects of Ocean Warming, Acidification, and Hypoxia on Gonadal Transcriptomics and Sex Ratios in European Sea Bass

Giovana S. Branco¹, Sylvain Jodet^{2,3}, Lauriane Madec², Thierry Morin³,
Morgane Danion³, David Mazurais², Arianna Servili²

¹Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos, Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Rua do Matão, Trav.14, n° 321, 05508-090 São Paulo, SP, Brazil, ²Ifremer, Univ Brest, CNRS, IRD, LEMAR, F-29280 Plouzane, France, ³Unit Virology, Immunology and Ecotoxicology of Fish, ANSES, Ploufragan-Plouzané-Niort Laboratory, Technopôle Brest-Iroise, 29280, Plouzané, France

Resumo

Climate change-driven increases in atmospheric CO₂ are modifying ocean physicochemical conditions, generating major abiotic stressors that affect fish physiology, reproduction, and development. This study investigated the combined effects of warming, acidification, and a hypoxia event on *Dicentrarchus labrax*, with a particular focus on gonadal differentiation and sex ratio dynamics. Fish were exposed until approximately 40 g body mass to: current conditions (Brest, France) and a projected 2100 scenario (+3 °C and -0.4 pH). Fish under current reached this size after 9 months, fish under future reached it after 6 months. Half of the fish (each condition) were subjected to 2 weeks of moderate hypoxia (~50% O₂ saturation). Transcriptomic analyses of gonads revealed major differences between current and future conditions, while no significant effect of hypoxia. A total of 1.430 transcripts were differentially expressed, with most genes overexpressed in the future associated with meiosis, cell proliferation, spermatogenesis, ciliary and flagellar organization, DNA repair, and energy metabolism, indicating intensified gametogenic activity. In contrast, genes related to extracellular matrix organization, immune signaling, and tissue interactions were downregulated. Sex determination markers demonstrated a striking alteration of sex ratio and sexual differentiation trajectories. Under current conditions, 67% of fish were identified as males, 5% as females, and 28% as mildly intersex individuals. In contrast, under future conditions, only 28% were classified as males, whereas 70% exhibited intersex phenotypes, predominantly testis-ova profiles characterized by female somatic markers associated with active male germ cell development. These results indicate that warming and acidification do not merely accelerate development but directly alter gonadal differentiation pathways, increasing the occurrence of intersex phenotypes and accelerating gonadal maturation.

Funding: HEALTHSEA project (PNR EST, ANSES 2023), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) process n° 2025/01964-0

Palavras-chave: Climate change, Intersex, Sex differentiation.



Impactos da temperatura na primeira maturação gonadal de fêmeas de *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae)

Amanda Satomi Tatibana¹, Beatriz Santos Lopes², Cristieli Fernanda Belancieri Souza²,
Alexandre Ninhaus-Silveira², Rosicleire Veríssimo-Silveira²

¹Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (Unesp/FEIS) ²Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (Unesp/FEIS)
E-mail: amanda.tatibana@unesp.br

Resumo

As alterações climáticas são responsáveis por inúmeros impactos nos ecossistemas de água doce, podendo afetar o metabolismo, comportamento, ciclo de vida e reprodução de peixes ectotérmicos. Em razão do aquecimento da água ser um dos cenários mais preocupantes na atualidade, objetivou-se identificar se a maturidade sexual de fêmeas de *Astyanax lacustris* é afetada pelo aumento térmico. Para tanto, fêmeas de *A. lacustris* mantidas em sistemas de recirculação de água a 26 °C (controle, $n = 89$) e 32 °C (temperatura elevada, $n = 93$) dos 13 aos 240 dias pós-eclosão (dpe) foram amostradas ao longo do desenvolvimento, sendo eutanasiadas com solução aquosa de benzocaína a 0,01%. As gônadas foram coletadas, preservadas em solução de paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 2% em tampão fosfato de Sorensen, pH 7,2, “overnight”, sendo processadas para microscopia de luz, com coloração de Hematoxilina e Eosina, e identificadas as fases do ciclo reprodutivo segundo a padronização de Brown-Peterson *et al.* (2011). Foram registrados os comprimentos totais (cm) individuais, a fim de calcular o comprimento de primeira maturação de 50% (L_{50}) dos animais, conforme Vazzoler (1996), utilizando proporção de fêmeas maduras para cada classe de tamanho de 5 mm e realizando a interpolação linear pelo *Matrix Laboratory* (MATLAB). A idade de primeira maturação de 50% foi estimada pelo modelo de crescimento de von Bertalanffy, onde $t(L_{50}) = L_{\infty} [1 - e^{-K(t_{50}-t)}]$. Nas fêmeas em ambos os tratamentos, observaram-se três fases reprodutivas: Imatura, Em desenvolvimento e Apta à desova. Verificou-se que, com a elevação térmica, foram menores o tamanho e a idade de início de maturação, apresentando L_{50} e $t(L_{50})$ estimados em 7,25 cm aos 66 dpe em 26 °C, e 6,86 cm aos 60 dpe em 32 °C. Em temperatura elevada, as fêmeas de *A. lacustris* iniciaram a maturidade sexual mais jovens, e com comprimentos corporais inferiores às aquelas mantidas a 26 °C, demonstrando os efeitos fisiológicos em resposta às alterações térmicas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e do Conselho do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB/Unesp).

Palavras-chave: ovário, primeira maturação, temperatura.



Influência da temperatura nas alterações hepáticas e na dinâmica energética em *Brycon orbignyanus* (Characidae) submetida ao sistema RAS

Cristieli Fernanda Belancieri Souza¹, Luciane Gomes da Silva¹, Bruna Caroline Kotz Kliemann¹, Amanda Satomi Tatibana¹, Beatriz Santos Lopes¹, Alexandre Ninhaus-Silveira¹, Rosicleire Veríssimo-Silveira¹

¹UNESP/FEIS - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Ilha Solteira
LINEO – Laboratório de Ictiologia Neotropical
E-mail: cristieli.souza@unesp.br

Resumo

Brycon orbignyanus é um peixe neotropical de relevância econômica e ecológica, associado ao consumo, à pesca esportiva e a programas de repovoamento. Entretanto, o aumento da temperatura da água pode alterar o metabolismo e comprometer a alocação energética para a reprodução. Assim, este estudo avaliou as alterações histológicas hepáticas e a dinâmica energética de machos mantidos por um ano em duas condições térmicas: 27 °C (T27) e 34 °C (T34), por meio dos índices hepatossomático (IHS) e gonadossomático (IGS). Os animais foram mantidos em sistema de recirculação de água com controle físico-químico e coletados (n=5/grupo) em dez/2020, nov/2021 e dez/2021. O fígado foi analisado por microscopia de luz (HE) e eletrônica de transmissão (CEUA-UNESP 10/2020). Foram identificadas hiperemia e deslocamento nuclear (estágio I) e congestão vascular (estágio II). Em ambos os tratamentos, hiperemia e congestão vascular apresentaram frequências $\leq 10\%$, sendo classificadas como ausentes. O deslocamento nuclear foi raramente presente em T27 (11%) e passou de ausente (10%) para raramente presente (16%) em T34 nos meses finais. Independentemente da temperatura, o IHS reduziu ao longo do experimento, sem diferenças estatísticas entre os grupos. O IGS manteve-se entre 0,002 e 0,003 em T34, diferindo de T27, que apresentou valores de 0,07 e 0,06 em nov/2021 e dez/2021. Conclui-se que as alterações histológicas apresentaram baixa frequência em ambos os tratamentos, sem comprometimento da integridade hepática. Em T27, a redução do IHS associada ao aumento do IGS indica mobilização energética para as gônadas. Em T34, os baixos valores de IGS sugerem maior investimento energético na manutenção metabólica em detrimento da reprodução. Os resultados indicam que, embora a temperatura elevada não tenha comprometido a integridade hepática, influenciou a dinâmica energética e, possivelmente, a reprodução da espécie.

O presente trabalho agradece o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, LINEO, UNESP, FAPESP e CNPq.

Palavras-chave: espécie ameaçada, estresse térmico, alocação energética.



Efeito da temperatura sobre a maturação reprodutiva em fêmeas de *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae) e evidência de independência em relação ao crescimento somático

**Rosicleire Veríssimo-Silveira^{1,2}, Amanda Satomi Tatibana¹, Beatriz Santos Lopes¹,
Cristieli Fernanda Belancieri Souza¹, Alexandre Ninhaus-Silveira¹**

¹Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (Unesp/FEIS)
E-mail: ²rosicleire.verissimo@unesp.br

Resumo

A temperatura é um dos principais moduladores exógenos dos processos fisiológicos em peixes, influenciando tanto o crescimento somático quanto a maturação reprodutiva. Frequentemente, assume-se que a maturação ocorre após o alcance de determinado tamanho corporal; contudo, ainda não está claro se variações térmicas podem alterar a cronologia reprodutiva independentemente do crescimento, com implicações diretas para a ecologia e a dinâmica populacional das espécies. Assim, este estudo avaliou o efeito de diferentes temperaturas sobre a idade de maturação e o comprimento corporal de fêmeas de *Astyanax lacustris*. Para tanto, fêmeas de *A. lacustris* mantidas por tempo prolongado em sistemas de recirculação de água a 20, 26 e 32 °C (CEUA-UNESP 07/2022) foram coletadas periodicamente, eutanasiadas (solução de benzocaina a 0,01%) e tiveram os dados biométricos coletados, assim como as gônadas removidas, fixadas (paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 2%, tampão fosfato Sorensen, pH 7,2), incluídas em glicol metacrilato e processadas para microscopia de luz. Após análise histológica das lâminas coradas com Hematoxilina e Eosina e a identificação das fases reprodutivas, foram determinadas as idades em que mais de 60% das fêmeas encontravam-se na fase “Apta à desova”. Considerando este momento, a temperatura elevada acelerou significativamente a maturação reprodutiva: 32 °C – 70 dpe, 26 °C – 100 dpe e 20 °C – 190 dpe. Entretanto, as médias de comprimento total foram de 8,04 ± 0,76 cm, 8,52 ± 0,69 cm e 8,21 ± 0,39 cm para 32, 26 e 20 °C, respectivamente, não diferindo entre os tratamentos térmicos (ANOVA, $p = 0,292$) e sugerindo que a temperatura modula o tempo da maturação gonadal, enquanto o comprimento na maturidade permanece relativamente constante. Conclui-se que a temperatura altera a velocidade em que a maturação é alcançada, mas esse processo ocorre ao atingir determinado tamanho corporal, independentemente da temperatura.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Palavras-chave: crescimento somático, maturação sexual, temperatura.



Influência do Ciclo Lunar na Reprodução da Tilápia-do-Nilo

Efrayn Wilker de Souza Candia¹, Bruno Corrêa Silva¹, Raphael de Leão Serafini¹,
Haluko Massago¹, Emanuela Meneghetti¹, Rafael Rodrigues Souza¹

¹Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri)
E-mail: brunosilva@epagri.sc.gov.br

O ciclo lunar tem sido reportado como modulador da atividade reprodutiva em algumas espécies aquáticas. Contudo, seu efeito sobre a reprodução da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) permanece pouco compreendido. Assim, este estudo teve objetivo de investigar a influência das fases lunares sobre os índices reprodutivos da espécie. Foram analisados dados de três safras de reprodução entre 2023 a 2026 no sistema de coleta de ovos na boca. As coletas foram realizadas semanalmente em hapas de reprodução (5 x 1,5 m), e obtidos os seguintes índices: número de ovos/larvas por fêmea acasalada, número de ovos/larvas por fêmea desovante e porcentagem de fêmeas desovantes. Os dados foram submetidos à análise de normalidade de Shapiro-Wilk e homocedasticidade de variâncias de Levene. Quando os pressupostos não foram atendidos, usaram-se testes não paramétricos (Kruskal-Wallis e Wilcoxon) ou paramétricos por meio do t-Student. Todas as análises utilizaram nível de significância de 5%. Observou-se que, durante a lua minguante, o número de ovos e larvas produzidos por fêmea acasalada foi de 549,1 e 363,5, respectivamente, valores superiores aos registrados na lua cheia, que apresentou 397,6 ovos e 257,7 larvas por fêmea acasalada. Em relação às demais características não se observaram diferenças entre as fases lunares, apresentando média nas três safras de: 2.250 ovos por fêmea desovante, 1.456 larvas por fêmea desovante e 21,2% de fêmeas desovantes por coleta. Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas para esses índices, as fases de lua minguante e lua nova apresentaram, em média, os maiores valores. Entretanto, a elevada variabilidade dos dados pode estar relacionada à influência de múltiplos fatores ambientais e de manejo. Este estudo demonstrou que o ciclo lunar pode exercer uma influência na reprodução da tilápia, contudo, estudos incluindo mais fatores ambientais podem aumentar a explicação da variação dos resultados reprodutivos.

Palavras-chave: Fases da lua, índices reprodutivos e *Oreochromis niloticus*.



Modulation of Nile tilapia reproduction by temporal and environmental factors in a recirculating aquaculture system

Michele Nunes^{1*}, Talita Ferreira¹, Mariane Magalhães¹, Fabiana Xavier¹, Poliane Fernandes¹, Marcelo Pedreira¹

¹ Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM
E-mail: michele.nunes@ufvjm.edu.br

Abstract

The formation of homogeneous batches of fingerlings is one of the main bottlenecks that can be mitigated by the early reproductive capacity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). However, the expression of this potential can be influenced by environmental and behavioral factors in intensive systems. This study aimed to evaluate the relationship between morphometric characteristics and spawning time of females up to 37 days after pair formation. The experiment was conducted at the Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys (UFVJM), in Diamantina, Brazil, using 78 females and 26 males (3:1 ratio) distributed in 26 tanks (1 m³) in a recirculating aquaculture system. Morphometric variables (total length, standard length, and body height) were measured, and weekly assessments of egg collection and water quality monitoring (pH, electrical conductivity, total solids, salinity, oxidation-reduction potential, temperature, and dissolved oxygen) were performed. Data were analyzed using ANOVA, considering the effects of time (days 5, 7, 14, 21, 28, 35, and 37) and season (summer and winter), with means compared using Tukey's test (5%). Time and season did not influence the morphometric variables of the females ($p > 0.05$). In contrast, reproductive variables were affected by time, with an increase in egg mass and number over the days ($p < 0.0001$). Time also influenced water quality parameters, causing variations in pH, electrical conductivity, total solids, and oxidation-reduction potential ($p < 0.05$). The season increased egg mass, male characteristics, water temperature, and salinity, while reducing oxidation-reduction potential and altering dissolved oxygen ($p < 0.05$). Both time and season influence Nile tilapia reproduction in the recirculation system. Although they do not affect female characteristics, they impact males, in addition to promoting variations in water quality parameters, which can directly affect reproductive performance.

Acknowledgments: This work was carried out with the support of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – Brazil (CAPES) – Funding Code 001.

Keywords: morphometric traits, recirculating aquaculture system, reproductive performance.



O estresse térmico prolongado compromete a reprodução apesar da plasticidade fisiológica em lambaris

**Raquel S Santos, Vitor Bazilio Machado, Eduardo Thomé Nicoleti,
Lucas Spinosa, Aylton Rene Bernale Hnambele, Danilo Pedro Streit Jr**

AQUAM Research Group, Animal Science Research Program and Veterinary Science Research
Program of University of Rio Grande do Sul
E-mail: racheelhere@gmail.com

Resumo

O aumento global das temperaturas e a maior frequência de ondas de calor extremas representam sérias ameaças à biodiversidade aquática, podendo comprometer o sucesso reprodutivo das espécies. Este estudo avaliou o impacto do estresse térmico prolongado (34 °C) por dois meses na recuperação reprodutiva, no desempenho zootécnico e na morfologia branquial do *Hyphessobrycon boulengeri*, como modelo para compreender os efeitos ecofisiológicos do aquecimento global. Para isso, *H. boulengeri* adultos, (n=300) foram distribuídos em dois grupos: Controle (26,5 °C) e Alta temperatura (34 °C). Após dois meses de exposição, iniciou-se a fase de recuperação de 7 meses. No 8º mês, a reprodução artificial foi induzida testando quatro combinações de cruzamentos em cinco repetições: G1 (casais controle), G2 (macho controle × fêmea submetida alta temperatura), G3 (macho submetido alta temperatura × fêmea controle) e G4 (casais submetidos alta temperatura). Durante a exposição, machos e fêmeas apresentaram escurecimento ovariano e testículos translúcidos, enquanto os controles exibiam ovários amarelados e testículos brancos. O IGS permaneceu estável na fase de exposição ($p > 0,05$), porém, os peixes submetidos em alta temperatura apresentaram maior ganho somático durante a recuperação, e a morfometria branquial revelou remodelamento epitelial do grupo nessa fase. Em relação à reprodução, os animais do grupo controle apresentaram maiores taxas de fertilização ($78,2 \pm 3,7\%$) e eclosão ($85,2 \pm 3,1\%$). Nos cruzamentos com apenas um dos sexos submetido alta temperatura (G2 e G3) houve redução significativa na fertilização (45,1 e 52,1%, respectivamente), na eclosão (27,7 e 46,9%, respectivamente) e aumento de até 10% nas deformidades larvais. Além disso, os casais do G4, não exibiram comportamento de desova entre si e a extrusão manual resultou em fertilização nula (0%). Em conclusão, o estresse térmico prolongado prejudicou severamente a competência reprodutiva em *H. boulengeri*, alertando que apesar da capacidade de plasticidade branquial e somática, a perpetuação das espécies pode ser comprometida frente a extremos climáticos.

Palavras-chave: Aquecimento global, Aquicultura, Infertilidade em peixes