

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

Caráter sexual secundário em *Brycon orbignyanus* (Characiformes:
Bryconidae) e sua associação com o período reprodutivo

Bárbara Correa Bianchini

Ilha Solteira – SP
Fevereiro, 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

Caráter sexual secundário em *Brycon orbignyanus* (Characiformes:
Bryconidae) e sua associação com o período reprodutivo

Bárbara Correa Bianchini

Prof.^a Dr.^a Rosicleire Veríssimo-Silveira
Me. Patrícia Postingel Quirino

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ilha Solteira – SP
Fevereiro, 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

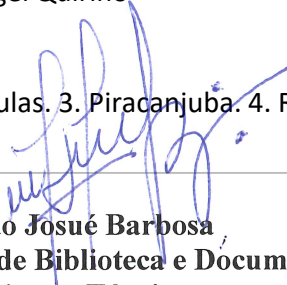
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

B577c Bianchini, Bárbara Correa.
Caráter sexual secundário em *Brycon orbignyana* (characiformes: *Bryconidae*) e sua associação com o período reprodutivo / Bárbara Correa Bianchini. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2022
23 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2022

Orientador: Rosicleire Veríssimo-Silveira
Co-orientador: Patrícia Postingel Quirino
Inclui bibliografia

1. Dimorfismo sexual. 2. Espículas. 3. Piracanjuba. 4. Reprodução de peixes.



João Josué Barbosa
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Diretor Técnico
CRB 8-5642

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**"CARÁTER SEXUAL SECUNDÁRIO EM *BRYCON ORBIGNYANUS* (CHARACIFORMES: BRYCONIDAE) E SUA ASSOCIAÇÃO COM O PERÍODO REPRODUTIVO"****Bárbara Correa Bianchini**

REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

Artigo 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máxima de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.

Artigo 24º – No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADA ou REPROVADA.

COMISSÃO EXAMINADORA


1ª EXAMINADORA (Orientadora - Presidente)

Nome: Profa. Dra. Rosicleire Veríssimo Silveira



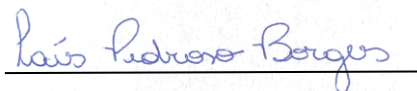
2ª EXAMINADORA

Nome: Me. Cibele Diogo Pagliarini



3ª EXAMINADORA

Nome: Me. Laís Pedroso Borges



CONCEITO

 Aprovada Reprovada

Ilha Solteira-SP, 02 de fevereiro de 2022.

Dedico este trabalho aos meus pais, meu irmão e meus avós.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir seguir o caminho que me trouxe aqui, e por guiar os que ainda irei percorrer. Por todas as pessoas que passaram, e que passarão pela minha vida;

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por todas as oportunidades e por ter realizado meu sonho de ser unespiana;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela bolsa de iniciação científica concedida (Processo 2019/27406-3);

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq;

A minha professora e orientadora, Rosicleire Veríssimo-Silveira, por toda paciência, ensinamentos e palavras de carinho e compreensão. Agradeço ao dia que tive a oportunidade de fazer parte do LINEO e ter a senhora perto de mim. Obrigada por tanto!

A empresa AES, pela concessão dos exemplares utilizados nesse trabalho;

Aos membros desta banca, apenas a agradecer por terem aceitado ao convite e por toda a contribuição ao meu trabalho;

A minha coorientadora, Patrícia Postingel Quirino, que se tornou um exemplo de pesquisadora, mulher e amiga. Obrigada por acreditar em mim quando nem eu mesma era capaz. Só tenho a agradecer por tanto carinho, paciência e dedicação comigo, você é incrível!

Ao professor, Alexandre Ninhaus-Silveira, por me mostrar que é possível ensinar com calma e paciência. O senhor é um exemplo tanto pessoal quanto profissional;

A todas as meninas do Laboratório, por toda ajuda, aprendizagem e risadas compartilhadas. Esse trabalho tem um pouco de cada uma. Obrigada por toda colaboração e ensinamentos. Girls in Science!!

A todos os funcionários da UNESP - FEIS, por toda ajuda fornecida, em especial ao Wilder, Sidival e Elton por toda colaboração e ensinamos para que esse trabalho pudesse acontecer;

Aos meus pais, Daniel Vieira Bianchini e Jane Eyre Correa Bianchini, por tudo que tenho e sou. Não existem palavras que descrevam a gratidão e felicidade que tenho por ser filha de vocês. Obrigada por tudo o que fizeram para que eu chegasse onde estou hoje, por cada gesto de amor, carinho e puxões de orelha. Amo vocês eternamente.

Ao meu irmão, Guilherme Correa Bianchini, por compartilhar comigo essa loucura de família em que nascemos. Obrigada por se fazer presente mesmo que de longe;

Aos meus avôs Evaristo Bianchini Sobrinho e Benedito Correa (que olham por mim lá do céu) e minhas avós Maria Valderez Vieira Bianchini e Marilene Grecco Correa, por todo

amor, afeto e dedicação que sempre tiveram por mim, e por deixarem um pouco de vocês em mim. Eu não poderia pedir avós mais sensacionais que vocês;

Aos meus tios, tias e primos, obrigada pela família incrível que vocês são! Eu não poderia ter nascido em família mais doida e melhor;

Ao meu namorado, Maicon Renato Gonçalves Preto, por ser o melhor companheiro que a vida poderia me dar. Obrigada por ser meu melhor amigo, técnico de informática, conselheiro e o melhor parceiro pro que der e vier! Que possamos crescer muito juntos. Eu amo você, meu wookiee;

A turma XVI de Ciências Biológicas – UNESP Ilha Solteira, por compartilharem comigo esses 5 anos, em especial a Beatriz Silvério dos Santos, por estar sempre ao meu lado nessa loucura que chamamos de universidade. Por estar presente nos meus melhores e piores momentos e ser o meu total oposto. Gratidão por ter você, Bibia;

A todos que de alguma forma cruzaram o meu caminho e fizeram parte de quem eu sou hoje, minha história não seria a mesma sem vocês. Meu eterno OBRIGADA!

RESUMO

Características sexuais secundárias são diferenças entre machos e fêmeas, não estando relacionadas aos órgãos reprodutores, mas sim diferenças morfológicas como coloração, tamanho ou estruturas acessórias associadas a reprodução. Em *Brycon orbignyanus* os machos podem ser diferenciados das fêmeas por meio de uma aspereza sentida nas nadadeiras anais, que surgem no período reprodutivo e são denominadas de espículas. Apesar de presente no período reprodutivo da espécie, pouco se sabe sobre a sinergia entre o desenvolvimento testicular e o aparecimento das espículas. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo analisar as características sexuais secundárias em machos de *B. orbignyanus* relacionando-as com a fase do ciclo testicular, visando a identificação dessa característica para a seleção de machos reprodutores em cativeiro. Para tal, foram coletados 20 exemplares de *B. orbignyanus* nas idades de um a três anos da estufa de Experimentação do Laboratório de Ictiologia Neotropical – LINEO (UNESP-FEIS), acondicionados em sistemas de recirculação d'água (4.500 L a $27 \pm 0,5$ °C). Os exemplares foram eutanasiados em solução de benzocaína e tiveram a nadadeira anal e testículos removidos. As nadadeiras anais foram desidratadas em etanol e processadas para microscopia eletrônica de varredura. Os testículos foram seccionados, fixados em glutaraldeído a 2%, paraformaldeído a 4% e tampão fosfato Sorensen - pH 7,2, incluídos em glicolmetacrilato e processados para microscopia de luz. Ambas as idades apresentavam de 22-28 raios por nadadeira anal. As nadadeiras possuíam coloração em tons avermelhados e pretos, com raios maiores na região cranial, diminuindo à medida que se aproximam da região caudal. Os raios são bifurcados e segmentados, de modo que as espículas estão mais concentradas na porção cranial da nadadeira, sendo encontradas do segundo ao décimo sexto raio, apenas uma por segmento. Microscopicamente são projeções em forma de quilha, tendo suas bases largas e sua porção terminal em forma de gancho. Foram encontrados animais em duas fases distintas: Imaturo e Aptos a Espermiar, de modo que o surgimento de espículas está associado ao desenvolvimento testicular, estando ausentes em espécimes Imaturos e presentes nos animais na fase Apto a Espermiar. Nesta fase há um aumento do número de raios com espículas com o avanço da espermatogênese. Assim, a espícula é uma característica sexual secundária a ser utilizada para a seleção de machos reprodutores em cativeiro.

Palavras chave: Dimorfismo sexual; Espículas; Piracanjuba; Reprodução de peixes.

ABSTRACT

Secondary sexual characteristics are differences between males and females, not related to reproductive organs, but morphological differences such as color, size or accessory structures associated with reproduction. In *Brycon orbignyanus* males can be distinguished from females by means of a roughness felt in the anal fins, which appear in the reproductive period and are called spicules. Although present in the reproductive period of the species, little is known about the synergy between testicular development and the appearance of spicules. Thus, the objective of this work was to analyze the secondary sexual characteristics in males of *B. orbignyanus* relating them to the phase of the testicular cycle, aiming at the identification of this characteristic for the selection of breeding males in captivity. To this end, 20 specimens of *B. orbignyanus* were collected at the ages of one to three years from the Experimentation greenhouse of the Neotropical Ichthyology Laboratory – LINEO (UNESP-FEIS), conditioned in water recirculation systems (4,500 L at $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$). The specimens were euthanized in benzocaine solution and had the anal fin and testes removed. Anal fins were dehydrated in ethanol and processed for scanning electron microscopy. The testes were sectioned, fixed in 2% glutaraldehyde, 4% paraformaldehyde and Sorensen phosphate buffer - pH 7.2, embedded in glycolmethacrylate and processed for light microscopy. Both ages had 22-28 rays per anal fin. The fins had reddish and black coloration, with larger rays in the cranial region, decreasing as they approach the caudal region. The rays are bifurcated and segmented, so that the spicules are more concentrated in the cranial portion of the fin, being found from the second to the sixteenth ray, only one per segment. Microscopically, they are keel-shaped projections, with broad bases and hook-shaped terminal portions. Animals were found in two distinct phases: Immature and Able to Sperm, so that the appearance of spicules is associated with testicular development, being absent in Immature specimens and present in animals in the Able to Sperm phase. In this phase, there is an increase in the number of rays with spicules with the advancement of spermatogenesis. Thus, the spicule is a secondary sexual characteristic to be used for the selection of breeding males in captivity.

Keywords: Sexual dimorphism; Spicules; Piracanjuba; Reproduction of fish

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 Introdução | 10 |
| 2 Material e métodos..... | 11 |
| 2.1 <i>Coleta dos animais</i> | 11 |
| 2.2 <i>Análise da nadadeira anal</i> | 12 |
| 2.3 <i>Histologia dos testículos</i> | 12 |
| 3 Resultados | 13 |
| 3.1 <i>Parâmetros morfométricos</i> | 13 |
| 3.2 <i>Morfologia da nadadeira anal e espículas</i> | 13 |
| 3.3 <i>Desenvolvimento do testículo de acordo com a presença ou ausência de espículas na nadadeira anal</i> | 14 |
| 4 Discussão..... | 18 |
| 5 Conclusão | 19 |
| Referências | 19 |

1 Introdução

O gênero *Brycon* tem grande destaque na piscicultura brasileira, por possuir espécies que despertam grande interesse comercial, tanto na pesca, quanto na produção aquícola (MENDONÇA, 1996; IZEL; MELO, 2003; GOMES *et al.*, 2010; MATTOS *et al.*, 2013), sendo no ano de 2020 produzidas cerca de 3.600 mil toneladas de *Brycon* para fins comerciais (IBGE, 2021). As espécies mais cultivadas de *Brycon* no país são matrinxã, *B. cephalus*, *B. amazonicus* e a piracanjuba, *B. orbignyanus* (IBGE, 2021). Dentre estas, *Brycon orbignyanus*, além de ser produzida para fins comerciais, é uma espécie produzida em larga escala, com controle de variabilidade genética, para fins de repovoamento de espécies nativas (BALDISSEROTTO; GOMES, 2005; LOPERA-BARRERO *et al.*, 2019), pois se encontra em risco de extinção desde a década de 90, devido a constante degradação ambiental, construções de hidroelétricas e sobrepesca (ICMBIO, 2018).

A piracanjuba é um peixe com período reprodutivo sazonal (CECCARELLI *et al.*, 2010), e assim como outros teleósteos, ao longo do seu ciclo reprodutivo suas gônadas sofrem uma remodelação que segue seu desenvolvimento, maturação e liberação dos seus gametas, fazendo com que cada espécie possua especificidades em seus ciclos reprodutivos (QUAGIO-GRASSIOTTO; WILDNER; ISHIBA, 2013; QUIRINO *et al.*, 2021), sendo em machos de *B. orbignyanus* a maturação sexual atingida com um ano de idade (QUIRINO *et al.*, 2021). Dentro da piscicultura, reconhecer a fase reprodutiva em que o animal se encontra é primordial para o manejo dos reprodutores, sendo geralmente empregada a época do ano, características da papila urogenital dos reprodutores, por dimorfismo sexual ou através de características sexuais secundárias (LOWERRE-BARBIERI *et al.*, 2011).

As características sexuais secundárias são todas aquelas que não estão relacionadas ao órgão reprodutivo, geralmente expressas de forma morfológica, sendo consideradas acessórios para a reprodução (DAVIES; KREBS; WEST, 2012). Dessa forma, diferenças comportamentais, de coloração, tamanho e formato do corpo, glândulas branquiais (MALABARBA; WEITZMAN, 2003; GONÇALVES *et al.*, 2005), assim como a presença de espinho, espículas ou ganchos que aparecem durante o período reprodutivo das espécies (TEIXEIRA, 2016), são consideradas características sexuais secundárias.

O surgimento de espículas nas nadadeiras anais de machos durante o período reprodutivo é comum para espécies da ordem Characiformes (VIEIRA, BARTOLETTE; BRITO, 2016), sendo observadas nos gêneros *Moenkhausia* (BENINE; MARIGUELA; OLIVEIRA, 2009), *Astyanax* (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2021), *Aphyocharax* (GONÇALVES

et al., 2005), *Hyphessobrycon* (TEIXEIRA *et al.*, 2019) e *Brycon* (VAZ; TORQUATO; BARBOSA, 2000; MACIEL, 2006). Em *Astyanax lacustris* (= *A. altiparanae*) sabe-se que a presença de espículas pode ser encontrada em qualquer fase do ciclo reprodutivo, uma vez que a espécie possui mais de um pico reprodutivo ao longo do ano, mas a frequência intensifica-se à medida que o animal está apto a espermiar (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2021).

Dessa forma, o trabalho teve como objetivo analisar as características sexuais secundárias em machos de *B. orbignyanus* relacionando-as com a fase do ciclo testicular, visando a identificação dessa característica para a seleção de machos reprodutores em cativeiro, de modo que a hipótese a ser testada é que todos os espécimes machos e adultos em *B. orbignyanus* que apresentam espículas desenvolvidas na nadadeira anal estão aptos a reproduzir.

2 Material e métodos

2.1 Coleta dos animais

Nos meses de setembro/2020 a janeiro/2021 foram coletados 20 exemplares de *Brycon orbignyanus* (mensalmente n=4), nas idades de um e três anos, que se encontravam acondicionados em sistemas de recirculação d'água de 4.500 L com temperatura de $27 \pm 0,5$ °C, localizados na estufa de experimentação do Laboratório de Ictiologia Neotropical – LINEO, da UNESP/FEIS. Os processos de manutenção dos tanques, manejo e eutanásia dos animais foram realizados seguindo as normas estabelecidas e aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNESP (12/2017 – CEUA/FEIS).

Após coletados, os animais foram transportados até o laboratório LINEO, onde foram eutanasiados em solução de benzocaína (0,05%) para posterior aferimento da massa corpórea (g), comprimento total e padrão (cm). Para a nadadeira anal de cada espécime foram aferidos os seguintes parâmetros: comprimento total (cm), número de raios, altura do primeiro, segundo e último raio (cm), identificação dos raios com presença de espículas e a quantidade de espículas por raio. Por fim, as nadadeiras foram removidas por incisão cirúrgica e processadas para análise em microscopia eletrônica de varredura.

Os testículos foram removidos a partir de uma incisão na parte ventral do animal e tiveram a massa aferida (g). Ambos, nadadeiras e testículos, foram fixados em solução de glutaraldeído a 2%, paraformaldeído a 4% e tampão fosfato Sorensen (pH 7,2). Para a determinação do índice gonadosomático (IGS) foi utilizada a fórmula $IGS = (\text{massa das$

gônadas/massa corpórea) x 100, conforme estabelecido por Vazzoler (1996), por ser um índice utilizado para o auxílio na determinação das fases do ciclo reprodutivo em que os peixes se encontram.

2.2 *Análise da nadadeira anal*

Após a fixação, todas as nadadeiras foram analisadas sob estereomicroscópio Leica® para verificar a presença/ausência das espículas e, quando presentes, foram quantificadas. Em seguida foram processadas para análise em microscopia eletrônica de varredura, seguindo o seguinte protocolo: desidratação por série crescente de etanol (70, 80, 85, 90, 95%) de 15 minutos de duração por ciclo e, por fim, em concentração 100% em dois banhos de 15 minutos. Posteriormente o material foi submetido a secagem, em aparelho de ponto crítico (Ponto Crítico Leica® CPD300), que utiliza CO₂ líquido para desidratação total do material. As nadadeiras foram então acomodadas nos stubs, que foram submetidos a um processo de metalização com íons ouro-paládio em Metalizador MED 010 da Leica®. Esse material foi examinado e elétron-micrografado em Microscópio Eletrônico de Varredura EVO LS15 - Carl Zeiss®. do Departamento de Física e Química da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP/FEIS.

2.3 *Histologia dos testículos*

Após fixação, os testículos foram processados para microscopia de luz, sendo seccionados e submetidos a série crescente de concentração alcoólica (etanol 70%, 95%) e posteriormente transferidos a uma solução de resina + álcool (1:1) por 5h e resina pura “overnight”. Os fragmentos testiculares foram incluídos e emblocados em historesina (glicolmetalcrilato) Leica® e posteriormente seccionado a 3 µm de espessura em um micrótomo semi-automático Leica® RM 2245 equipado com navalha de vidro, para confecção das lâminas histológicas. As lâminas foram coradas seguindo os protocolos usuais de Hematoxilina/Eosina (H.E.).

As análises das fases do ciclo reprodutivo na espécie foram classificadas de acordo com as características macroscópicas e microscópicas do testículo, seguindo o proposto por Brown-Peterson e colaboradores (2011).

3 Resultados

3.1 Parâmetros morfométricos

Foram analisados machos de *B. orbignyanus* em duas idades: um ano e três anos (Tabela 1). Os machos analisados apresentaram uma única nadadeira anal, sendo os raios maiores na região anterior e diminuindo gradativamente à medida que se aproximam da região posterior da nadadeira (Figura 1A-B).

Tabela 1: Dados biométricos de espécimes machos de *Brycon orbignyanus*.

| Idade (ano) | Comprimento total (cm) | Massa corpórea (g) | Comprimento da nadadeira (cm) | Nº de raios | IGS |
|-------------|------------------------|--------------------|-------------------------------|-------------|--|
| 1 ano | 20,35 ± 1,60 | 95,85 ± 23,72 | 4,02 ± 0,39 | 22-28 | Imaturos: 0,002 ± 0,001 |
| 3 anos | 34,65 ± 5,07 | 598,93 ± 191,54 | 7,76 ± 1,17 | 22-28 | Intermediário: 0,005 Final: 0,972 ± 0,271 |

Espécimes imaturos: n = 10. Espécimes Aptos a Espermiar: subfase Intermediário n = 1; subfase Final n = 9. **Fonte:** Dados da pesquisa da autora, 2022.

3.2 Morfologia da nadadeira anal e espículas

Macroscopicamente a nadadeira anal apresenta coloração escura com tons avermelhados e raios ósseos unidos por membranas chamadas interradiais (Figura 1A-B). Os raios possuem bifurcações à medida que distanciam do ventre do animal (Figura 1-C). A análise microscópica permite observar que os raios apresentam segmentos, e as bifurcações na região terminal dos raios estão mais evidentes (Figura 1C-D).

A nadadeira anal pode ou não apresentar espículas. Quando presentes, macroscopicamente são observada como pequenas projeções ao longo dos raios (Figura 1E). A presença de espículas na nadadeira anal é perceptível ao toque, como uma aspereza maior na porção terminal dos raios, que diminui em intensidade quanto mais próximo ao ventre do animal. Também há alterações de intensidade ao longo da extensão da nadadeira, sendo mais evidente na parte central e menos quanto mais próximo da região caudal, até se tornarem ausentes.

As espículas são observadas a partir do segundo raio da nadadeira e presentes até o décimo sexto raio sendo recobertas por uma extensão da membrana interr radial (Figura 1F). Cada segmento do raio apresenta apenas uma única espícula, mesmo na região bifurcada.

Microscopicamente as espículas são dadas por pequenas projeções com formato de quilha, tendo suas bases cilíndricas largas e porções terminais finas, em formato de gancho, o que confere a aspereza quando manuseada (Figura 1F-G).

3.3 Desenvolvimento do testículo de acordo com a presença ou ausência de espículas na nadadeira anal

As características da nadadeira anal, como presença ou ausência de espículas e quantidade de raios das mesmas, foram associadas as fases morfológicas do desenvolvimento testicular (Tabela 2).

Os animais com um ano de idade foram classificados como Imaturos (n=10) (Figura 2A-C; Tabela 1), com um epitélio germinativo ainda em organização, apresentando inúmeras espermatogônias A-indiferenciadas e A-diferenciadas (Fig. 2B-C), e somente esse estágio de célula germinativa, organizadas em cordões ao longo de todo o testículo (Fig. 2B), sendo possível ainda observar vasos sanguíneos distribuídos pelo interstício. Esses animais não possuíam espículas na nadadeira anal (Tabela 2).

Por outro lado, os espécimes de três anos de idade apresentaram espículas na nadadeira anal e foram classificados na fase denominada Apto a Espermiar (n=10) (Figura 2D-I; Tabela 1), que é dada por um epitélio germinativo organizado com a presença de todas as células da linhagem germinativa: espermatogônias, cistos de espermatócitos, cistos espermátides, e luz repleta de espermatozoides. Observando a descontinuidade do epitélio germinativo, foi possível identificar duas subfases distintas: intermediária e final. Na subfase intermediária (n=1) (Fig. 2D-E), os testículos dos animais continham espermatozoides no lúmen ao longo de toda a extensão do órgão, com descontinuidade do epitélio germinativo pouco presente. Na subfase final (n=9) (Fig. 2F-I), o lúmen é amplo e se encontrava repleto de espermatozoides, túbulos com epitélio germinativo descontínuo por toda a sua extensão, com a presença de raros cistos dispersos.

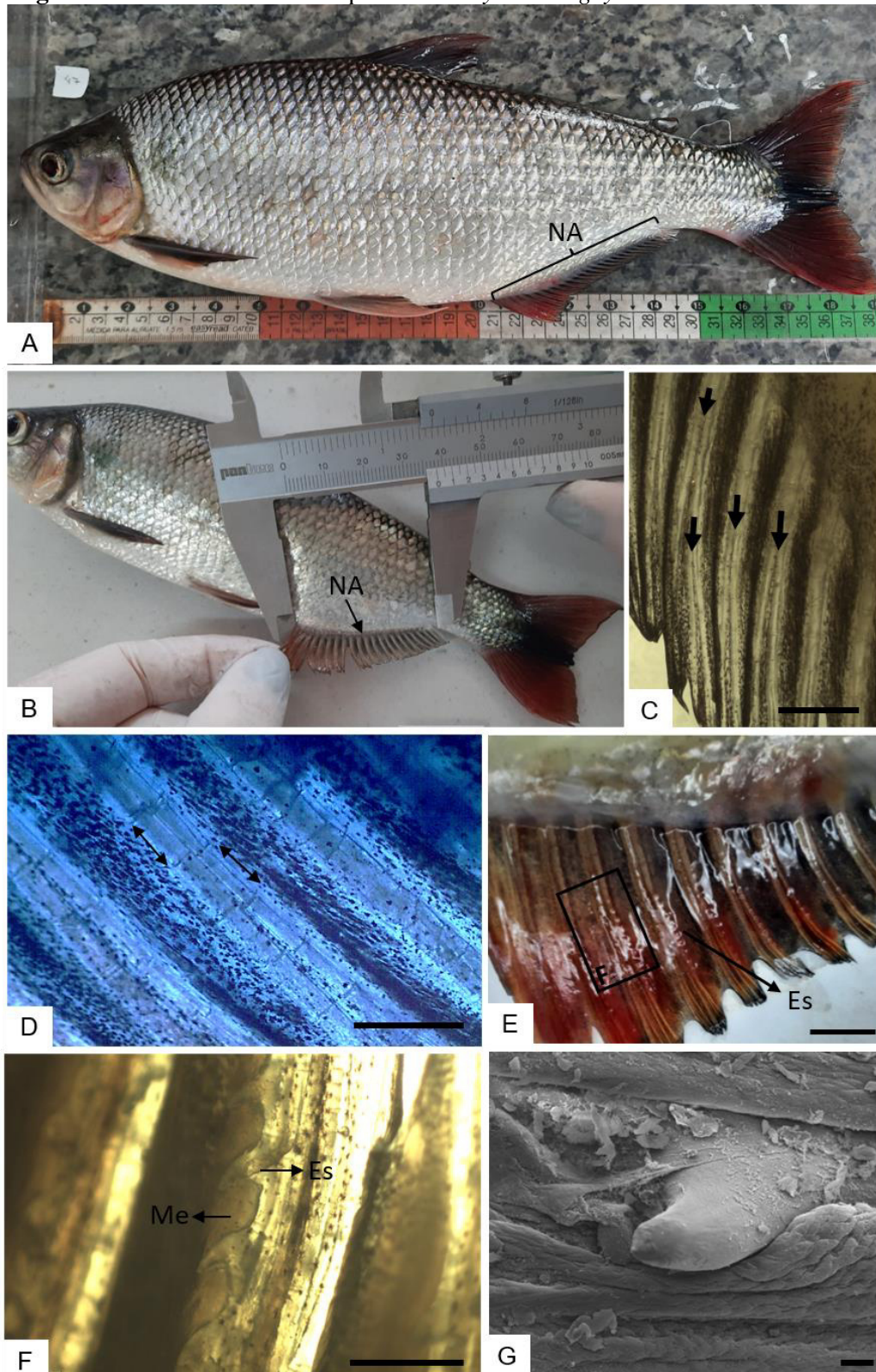
O animal na Fase Apto a Espermiar, subfase intermediária, apresentou espículas do segundo ao terceiro raio da nadadeira anal, somente dois raios, e aqueles que se encontravam na subfase final apresentavam até 14 raios com espículas, entretanto ocorrendo uma variação no raio a apresentar inicialmente as espículas, podendo ser o segundo, terceiro ou quarto. Nesses animais as espículas foram observadas até o décimo sexto raio (Tabela 2).

Tabela 2: Dispersão de espículas nos raios da nadadeira anal em *Brycon orbignyanus* de acordo com a fase do ciclo reprodutivo

| Idade (anos) | Fase do ciclo reprodutivo | Subfase do ciclo reprodutivo | Raios com espículas |
|---------------------|----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 anos | Imaturo | - | 0 raios |
| 3 anos | Aptos a espermiar | Intermediária | 2 raios |
| | | Final | Até 14 raios |

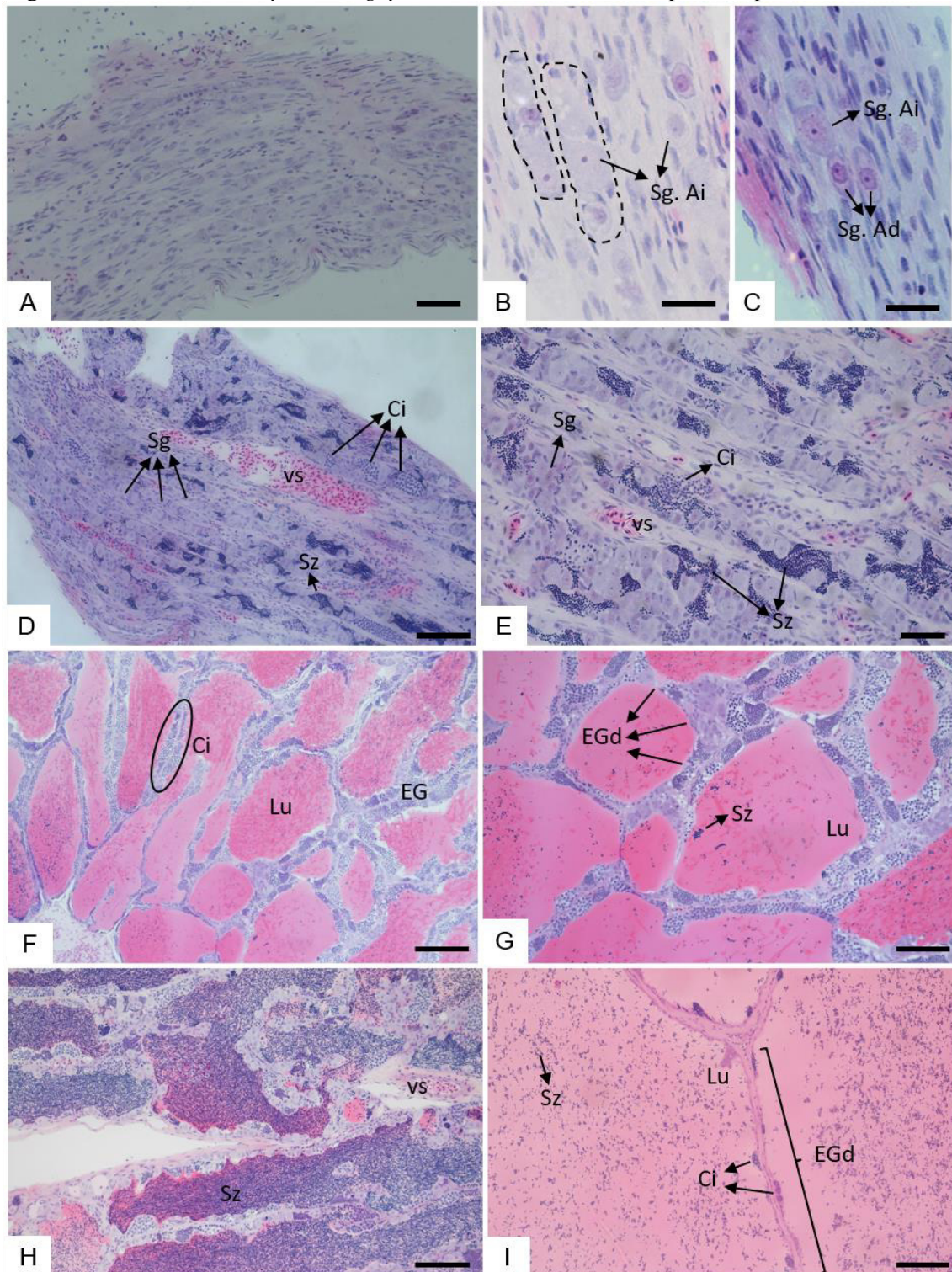
Fonte: Dados de pesquisa da autora, 2022.

Figura 1 – Nadadeiras anais e espículas de *Brycon orbignyana* machos.



A e B: Exemplares machos e adultos de *B. orbignyana* indicando o local da nadadeira anal (NA). **C:** Setas indicando locais de bifurcações sofridas pelos raios. **D:** Indicação dos segmentos dos raios. **E:** Visão macroscópica das espículas (Es). **F:** Visão microscópica das espículas (Es) e da membrana que as recobre (Me). **G:** Microscopia eletrônica de varredura, dando enfoque a espícula. **Escala:** C, D, E e F = 1cm; G = 30 μ m. **Colorações:** D: Azul de toluidina. **Fonte:** Dados da pesquisa da autora, 2022.

Figura 2 – Testículo de *Brycon orbignyianus* nas fases imaturos e aptos a espermiar.



A: Visão geral do testículo de *B. orbignyianus* imaturo. **B e C:** Testículo imaturo dando enfoque as espermatogônias A-indiferenciadas (Sg. Ai) e espermatogônias A-diferenciadas (Sg. Ad). **D-I:** Testículo apto a espermiar. **D e E:** Testículo em espermiacão intermediária, espermatogônias (Sg), cistos de diversos tipos celulares (Ci) e espermatozoides (Sz). **F-I:** Testículo em espermiacão final, contendo cistos de diversos tipos celulares (Ci), espermatozoides (Sz) no lúmen (Lu) e epitélio germinativo descontínuo (Egd). **Vs:** Vasos sanguíneos. **Escala:** A = 20µm; B e C = 10µm; D = 100µm; E-I = 50µm. **Colorações:** Hematoxilina/Eosina. **Fonte:** Dados da pesquisa da autora, 2022.

4 Discussão

Os exemplares de *Brycon orbignyanus* utilizados neste estudo apresentaram média de comprimento total dentro do já observado para a espécie para estas idades (QUIRINO *et al.*, 2021), classificando a mesma como peixes de grande porte, assim como a quantidade de raios presentes na nadadeira anal, apresentando até 28 raios por nadadeira anal (LIMA, 2017). As bifurcações sofridas pelos raios já foram descritas como sendo uma característica para a família Characidae (TEIXEIRA, 2016), do qual *B. orbignyanus* era pertencente, porém com as classificações atuais, a espécie é classificada como pertencente à família Bryconidae (REIS, *et al.* 2020). Deste modo, esta característica de ramificação não é restrita somente a Characidae, mas amplia-se pela ordem Characiformes.

Apesar de compartilharem as características de ramificação dos raios, as famílias diferem quando analisadas a distribuição de espículas por raio, de modo que neste estudo identificamos que os machos de piracanjuba desenvolvem apenas uma espícula por seguimento de raio. Por outro lado, em membros da família Characidae como *Astyanax* (MALABARBA; WEITZMAN, 2003; TEIXEIRA, 2016; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2021) e *Moenkhausia* (ZANATA; BIRINDELI; MOREIRA, 2009; BENINE; MARIGUELA; OLIVEIRA, 2009) podem estar dispostas de duas a três espículas em um único segmento de raio.

Assim como a distribuição, as espículas variam entre as espécies em relação à sua morfologia, pois em espécies do gênero *Hyphessobrycon* desenvolvem-se de forma cônica, sem que haja formação de gancho na porção terminal (TEIXEIRA *et al.*, 2019), enquanto que em *B. orbignyanus* a formação de gancho na porção terminal da espícula é acentuada. Devido a este formato de gancho das espículas é possível sentir ao tato uma aspereza nas nadadeiras anais dos machos, que na maioria dos casos é a característica sexual secundária mais usada para a seleção dos machos quando realizada a reprodução induzida (MALABARBA; WEITZMAN, 2003).

Para que a reprodução induzida seja bem sucedida, é apropriado que os melhores reprodutores sejam selecionados para serem induzidos (BALDISSEROTTO; GOMES, 2005). Em função disso, a classificação efetiva das fases reprodutivas nos machos de acordo com o proposto por Brown-Peterson *et al* (2011) é essencial, pois a associação da presença de espículas como característica sexual secundária em *Brycon orbignyanus* às fases reprodutivas possibilitarão uma melhor seleção de reprodutores. Neste estudo, identificamos que a presença de espículas ocorreu em todos os espécimes Aptos a Espermiar, mas esteve ausente nos indivíduos Imaturos, o que caracteriza que o desenvolvimento das espículas nas nadadeiras

anais de *B. orbignyanus* é sazonal e está atrelado ao período reprodutivo da espécie confirmando a hipótese inicial testada neste estudo.

O uso do IGS permite estimar as condições das gônadas em cada fase do ciclo testicular é muito utilizada em estudos (VAZZOLER, 1996; SIQUEIRA-SILVA; RODRIGUES; NÓBREGA, 2019; QUIRINO *et al.*, 2020), sendo ainda mais eficiente quando acompanhada das análises histológicas, assim como feito no presente estudo, isso porque, o IGS pode vir a apresentar faixas de sobreposição de valores de acordo com as características das fases do ciclo reprodutivo (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2013; CHAGAS *et al.*, 2016). Neste caso, não houve sobreposição dos valores, uma vez que as fases do ciclo reprodutivo encontradas para *B. orbignyanus* neste estudo foram restritas somente a espécimes Imaturos ou Aptos a Espermiar, situações onde os testículos possuem formação e desenvolvimento muito distintos.

5 Conclusão

A presença de espículas nos raios da nadadeira anal de *Brycon orbignyanus* está associada ao desenvolvimento testicular, sendo ausentes em espécimes imaturos sexualmente ou jovens e presentes naqueles no qual a fase do desenvolvimento testicular é denominada Apto a Espermiar. Além disso, nos espécimes Apto a espermiar o número de raios da nadadeira anal com espículas aumenta com o avanço da espermatogênese, presentes até o terceiro raio em exemplares na subfase Intermediária e até o décimo sexto raio na subfase Final. Assim, a presença de espículas na nadadeira anal para esta espécie é uma característica sexual secundária a ser utilizada na seleção de machos sexualmente ativos para a reprodução induzida em cativeiro.

Referências

- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, 2005. 2. ed. Santa Maria: Editora UFSM. p. 472.
- BENINE, R. C.; MARIGUELA, T. C.; OLIVEIRA, C. New species of *Moenkhausia* Eigenmann, 1903 (Characiformes: Characidae) with comments on the *Moenkhausia oligolepis* species complex. **Neotropical Ichthyology**, 2009. v. 7, n.2, p. 161-168.
- BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B.; LOWERRE-BARBIERI, S. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, 2011. v. 3, n. 1, p. 52-70.

CECCARELLI, P. S.; SENHORINI, J. A.; CANTELMO, O. A.; REGO, R. F. Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*, Valenciennes, 1849). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. Ed. Santa Maria: UFMS, 2010. p. 117-148.

CHAGAS, J. M. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Ciclo testicular de *Devario aequipinnatus* (Teleostei, Cyprinidae): um potencial modelo biológico em experimentação animal. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 2016. v. 42, n. 4, p. 765-779.

DAVIES, N. B.; KREBS, J. R.; WEST, S. A. **An introduction to Behavioural Ecology**. John Wiley & Sons, 2012. p. 506.

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

GONÇALVES, T. K., AZEVEDO, M. A., MALABARBA, L. R., FIALHO, C.B. Reproductive biology and development of sexually dimorphic structures in *Aphyocharax anisitsi* (Ostariophysi: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, 2005. v. 3, n. 3, p. 433–438.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária**, 2021. <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940> Acesso em 15 de Novembro de 2021.

ICMBIO – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**, 2018. Brasília, DF: ICMBio/MMA. p. 492. https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro_vermelho_2018_vol1.pdf Acesso em 15 de Novembro de 2021.

IZEL, A. C. U.; MELO, L. A. S. **Criação de matrinxã (*Brycon cephalus*) em barragens no Estado do Amazonas**. Ministério da Agricultura agropecuária e abastecimento, Embrapa Amazônia Ocidental, 2003. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/676197/criacao-de-matrinx-brycon-cephalus-em-barragens-no-estado-do-amazonas> Acesso em 04 de Fevereiro de 2022.

LIMA, F. C. T. A revision of the cis-andean species of the genus *Brycon* Müller & Troschel (Characiformes: Characidae). **Zootaxa**. Auckland, New Zealand, 2017. v. 4222, n. 1, p. 001-189.

LOPERA-BARRERO, N. M.; SANTOS, S. C.; CASTRO, P. L.; SOUZA, F. P.; POVEDA-PARRA, A. R.; PANDOLFI, V. C.; YAMACHITA, A. I.; URREA-ROJAS, A. M.; ROJAS-MEZA, D. A.; RIBEIRO, R. P. Diversidade genética de populações de Piracanjuba do programa de repovoamento do Rio Tietê, Brasil. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, 2019. v. 32, n. 2, p. 139-149.

LOWERRE-BARBIERI, S.K., BROWN-PETERSON, N.J., MURUA, H., TOMKIEWICZ, J., WYANSKI, D., SABORIDO-REY, F. Emerging issues and methodological advances in fisheries reproductive biology. **Marine and Coastal Fisheries**, 2011. v.3, n. 1, p. 32-51.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de Piracanjuba, *Brycon orbignyanus valenciennes (1849)* (Characiformes, Characidae, Bryconinae)**. 2006. 244 f. Tese (Doutorado em em Genética e Melhoramento de Animais Domésticos; Nutrição e Alimentação Animal; Pastagens e Forragicul) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

MALABARBA, L. R.; WEITZMAN, S. H. Description of a new genus with six new species from southern Brazil, Uruguay and Argentina, with a discussion of a putative characid clade (Teleostei: Characiformes: Characidae). **Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS, Zoologia**, 2003. v. 16, n. 1, p. 67-151.

MATTOS, B. O.; COSTA, A. C.; LEAL, R. S.; FREITAS, R. T. F.; PIMENTA, M. E. S. G.; FREATO, T. A. Desempenho produtivo de *Brycon orthotaenia* em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem. **Ciência Rural**, 2013. Santa Maria, v. 43, n. 6, p. 1057-1062.

MENDONÇA, J. O. J. O gênero *Brycon*: Piracanjuba, Matrinchã, piraputanga, piabanha, entre outros. **Panorama da Aquicultura**, 1996. <https://panoramadaaquicultura.com.br/o-genero-brycon/> Acesso em 04 de Fevereiro de 2022.

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

QUIRINO, P.P.; RODRIGUES, M. S.; CABRAL, E. M. S.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.; MORI, R. H.; BUTZGE, A. J.; NOBREGA, R. H.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The influence of increased water temperature on the duration of spermatogenesis in a neotropical fish, *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, 2020. Publicação online: <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00869-7>, 2020.

QUIRINO, P. P., DELGADO, M. L. R., GOMES-SILVA, L., BENEVENTE, C. F., GRIGOLI-OLIVIO, M. L., BIANCHINI, B. C., NINHAUS-SILVEIRA, A., VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Female sex inversion as a reason for an unbalanced sex ratio in the neotropical species *Brycon orbignyanus*. **Aquaculture Research**, 2021. 00, p. 1-21. Publicação online: <https://doi.org/10.1111/are.15701>, 2021.

REIS, R. B.; FROTA, A.; DEPRÁ, C. G.; OTA, R. R.; GRAÇA, W. J. Freshwater fishes from Paraná State, Brazil: an annotated list, with comments on biogeographic patterns, threats, and future perspectives. **Zootaxa**, 2020. Auckland, New Zealand, v. 4868, n. 4, p. 451-494.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; VICENTINI, C. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Reproductive cycle of the Neotropical cichlid yellow peacock bass *Cichla kelberi*: A novel pattern of testicular development. **Neotropical Ichthyology**, 2013. v. 11, n. 3, p. 587-596.

SIQUEIRA-SILVA, D. H., RODRIGUES, M. S., NÓBREGA, R. H. Testis structure, spermatogonial niche and Sertoli cell efficiency in Neotropical fish. **General and comparative endocrinology**, 2019. v. 273, p. 218-226.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; BERTOLINI, R. M.; LEVY-PEREIRA, N.; NASCIMENTO, N. F.; SENHORINI, J. A.; PIVA, L. H.; FERRAZ, J. B. S.; YASUI, G. S. Factors affecting

secondary sex characteristics in the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. **Fish Physiol and Biochem**, 2021. v. 47, n. 3, p. 737-746 <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00832-6>, 2021.

TEIXEIRA, T. F. **Evolução dos caracteres sexuais secundários em Characidae (Teleostei: Characiformes)**. 2016. 725 f. Tese (Pós-graduação em Sistemática, Taxonomia e Biodiversidade) – USP, Museu de Zoologia, 2016.

TEIXEIRA, T. F.; DUTRA, G. M.; PENIDO, I. S.; SANTOS, S. A.; PESSALI, T. C. A new species of *Hyphessobrycon* (Characiformes, Characidae) from the upper Rio Jequitinhonha basin, Minas Gerais, Brazil, with comments on morphological similarities with Stethaprioninae species from headwater environments. **Journal of Fish Biology**, 2019. v. 96, n. 1, p. 1-14.

VAZ, M. M.; TORQUATO, V.C.; BARBOSA, N. D. **Guia ilustrado de peixes da bacia do rio Grande**. CEMIG/CETEC, 2000. 144 p.

VAZZOLER, A. E. A. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Ed. UEM. Maringá, 1996. p. 169.

VIEIRA, C. S.; BARTOLETTE, R.; BRITO, M. F. G. Comparative morphology of bony hooks of the anal and pelvic fin in six neotropical characid fishes (Ostariophysi: Characiformes). **Zoologischer Anzeiger: A Journal of Comparative Zoology**, 2016. [S.l.], v. 260, p. 57-62.

ZANATA, A. M.; BIRINDELLI, J. L. O.; MOREIRA, C. R. New species of *Moenkhausia Eigenmann* (Characiformes: Characidae) from Rio Xingu and Rio Tapajós basins, Brazil, with comments on a putative case of polymorphic Batesian mimicry. **Journal of Fish Biology**, 2009. v. 75, n. 10, p. 2615-2628.