

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

LUCIANE GOMES DA SILVA

Bióloga

**PARÂMETROS TESTICULARES DE
Brycon orbignyanus (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) EM
DIFERENTES IDADES**

**Ilha Solteira
2019**

LUCIANE GOMES DA SILVA

PARÂMETROS TESTICULARES DE
Brycon orbignyanus **(CHARACIFORMES, CHARACIDAE) EM**
DIFERENTES IDADES

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

Orientadora: Profa. Dra. Rosicleire Veríssimo Silveira

Ilha Solteira

2019

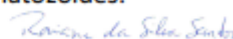
FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S586p Silva, Luciane Gomes da.
Parâmetros testiculares de *Brycon orbignyanus* (Characiformes, Characidae) em diferentes idades / Luciane Gomes da Silva. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2019
50 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Produção Animal, 2019

Orientador: Rosicleire Veríssimo Silveira
Inclui bibliografia

1. Reprodução. 2. Piracanjuba. 3. Morfologia. 4. Espermatozoides.


Raiane da Silva Santos

Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CIBS-9 - 9999



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Relação parâmetros testiculares de *Brycon orbignyanus* (Characiformes, Characidae) em diferentes idades

AUTORA: LUCIANE GOMES DA SILVA

ORIENTADORA: ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Profa. Dra. JAQUELINE DALBELLO BILLER
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena

Dra. DANIELLE ZANERATO DAMASCENO
Departamento Técnico-Comercial / Raguife Indústria e Comércio de Rações

Ilha Solteira, 26 de fevereiro de 2019

DEDICO

Aos meus pais, Zizi Brandão e Justino Gomes por serem exemplos de resiliência, garra, determinação, honestidade e por me passarem valores que hoje norteiam todas as minhas decisões. Minha fonte de inspiração.

Aos meus irmãos, por todo apoio, carinho, brincadeiras, puxões de orelha e por me presentear com tesouros incalculáveis, meus amados sobrinhos.

A todas as mulheres, às que fazem ciência nesse país, as que não tiveram a oportunidade de investir em sua educação, mas principalmente a todas que o direito de viver lhes foi tirado.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por meio da FEIS-Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, pela oportunidade de concluir mais um grau na minha vida acadêmica; a Coordenação de Aperfeiçoamento do Ensino Superior-Capes, pela bolsa de estudos; a Estação de Aquicultura da Usina Hidrelétrica Mário Lopes Leão, AES-Tietê, em conjunto com a empresa da Big Peixe LTDA-ME, especialmente a Guilherme Antônio de Freitas pela doação dos exemplares de *B. orbignyana* e por todo apoio logístico.

A minha orientadora, Profa. Dra. Rosicleire Veríssimo Silveira, por depositar a sua confiança em mim, recebendo-me no seu grupo de pesquisa, aceitando a tarefa de me orientar e por seu valioso conhecimento comigo compartilhado. Sempre serei grata.

Aos que com apoio e compreensão se fizeram de base para que eu pudesse chegar até aqui. Família; aos meus sobrinhos por serem minha fonte de amor e por compreenderem que a Tia mesmo longe tenta se fazer presente.

Ao meu sobrinho Cleiton, por ser tão jovem e ao mesmo tempo tão responsável, e principalmente por me escolher como melhor amiga. Te amo tanto.

As minhas “mães”, Zizi Brandão, Marta Rodrigues e Cleo Gomes, eu tenho a sorte de ter essas três mulheres em minha vida e por receber amor em triplo.

Ao Laboratório de Ictiologia Neotropical - LINEO, no qual tive a oportunidade de crescer como profissional. Prof^o Dr. Alexandre Ninhaus, Amanda, Geovana, Elis, Cristiane Bashyio, Fabrício, Patrícia,

Laís, Ricardo, Renata, Malbelys, Crystal, Yasmim, Eveillyn, M^a Luíza, Ana Carolina, Gabrelle, Bruna e Yane, muito obrigada por todos os momentos compartilhados.

Aos que se fizeram “Lar” (Amigos), quando a necessidade de laços familiares falou mais alto. Em especial a Fran Viana, Laícia Leite, Fábila Portella, Gleiciane Fernandes, Tatiana Santos, Luciana Gomes (Minha gêmea), Flor, Nicollas Linhares, Maria Angélica Dutra, Renan Leão, Cristiane Benevente, Eduardo de Souza, Ivo Oliveira, Yasmim Oliveira, Pedro Maciel. Todos vocês direta ou indiretamente estiveram me apoiando e cedendo um pouquinho do seu carinho. “Eu não posso demitir vocês da minha vida, amo vocês”.

As minhas primas Sandy Gomes, Kamylla Gomes e Brandayne Gomes, por me fazerem dar altas risadas.

As amigas da graduação (A república MinaMora), Gildene Britto, Conceição Oliveira, Katharine Batista, Claudete Trindade, por todos os “Karaokês” sem microfone e todas as “tortas de frango”. A nossa banda de pop que não deu certo pois nosso violão quebrou as cordas.

Aos professores e técnicos do Departamento de Biologia e Zootecnia – DBZ, e aos da Seção Técnica de Pós-graduação, pela atenção e profissionalismo.

Às Forças misteriosas que existem entre o Céu e a Terra, ou acima e abaixo deles, e que sempre fazem as coisas darem certo, no fim.

“Não deixemos que a vida passe em branco, e que pequenas adversidades sejam a causa de
grandes tempestades”

Fernando Pessoa

RESUMO

Brycon orbignyanus conhecido popularmente como piracanjuba é uma espécie de interesse para piscicultura por seu comportamento agressivo, carne saborosa e crescimento rápido. Contudo a espécie encontra-se na categoria de ameaçada de extinção, devido a fragmentação do habitat com a construção de hidrelétricas, e consequente destruição do habitat, além da sobrepesca. Diante da importância desta, buscou-se compreender por meio de análises estereológicas, histológicas em conjunto com o Índice gonadosomático (IGS) as alterações e correlações dos parâmetros testiculares da espécie em 3 diferentes idades, para uma melhor compreensão do desenvolvimento reprodutivo da espécie, desde as fases iniciais. Para isso utilizou-se o índice (IGS), na determinação do período reprodutivo e suas fases. Para isso 30 exemplares de *B. orbignyanus* com idade de 1 a 3 anos, oriundos da Estação de Aquicultura da Usina Hidrelétrica Mário Lopes Leão, A.E.S - Tietê, localizada na cidade de Promissão-SP (21° 17' 49" S, 49° 47' 0" W), foram capturados. Após a coleta, os animais foram insensibilizados e eutanasiados em solução de benzocaína (CEUA-FEIS-UNESP Nº12/2017). Após anestesiados os testículos foram retirados, sendo posteriormente processados para microscopia de luz. Os processamentos e a análises do material biológico após a coleta foram realizadas no Laboratório de Ictiologia Neotropical - LINEO, no Departamento de Biologia e Zootecnia do campus da UNESP-FEIS de Ilha Solteira/SP. A análise histológica permitiu identificar três fases de desenvolvimento testicular para *B. orbignyanus*: Imaturo, Maturação Inicial para animais com 1 ano e Maturação Final para animais com 2 e 3 anos de idade. Na análise comparativa com idades de 1, 2 e 3 anos, a proporção de crescimento da espécie foi maior nos 2 primeiros anos de vida; o IGS apresenta uma faixa de variação dentro da mesma fase de reprodutiva, contudo animais com dois e três anos de idade, apesar de estarem na mesma fase (Maturação Final) do desenvolvimento testicular apresentaram diferenças estatísticas nos valores do IGS, tendendo a acompanhar a idade do animal de forma crescente; O IGS está relacionado de forma positiva com o ganho de massa corporal e testicular (g), assim como com o crescimento (cm) e idade do animal. A análise estereológica mostrou que a proporção de espermatozoides na luz dos túbulos anastomosados não variou com o aumento do IGS.

Palavras-chave: Reprodução. Piracanjuba. Morfologia. Espermatozoides.

ABSTRACT

Brycon orbignyanus popularly known as piracanjuba, is a species of fish farming interest because of its aggressive behavior, delicious meat and rapid growth. the species is threatened of extinction, due to habitat fragmentation with the construction of hydroelectric, consequent habitat destruction, and overfishing. Considering the importance of this, we sought to understand, through stereological and histological analyzes, the changes and correlations of testicular parameters of the species at three different ages, together with the gonadosomatic index (GSI), for a better understanding of the reproductive development of the species, since the initial stages. For this purpose, the index (GSI) was used to determine the reproductive period and its phases. A total of 30 specimens of *B. orbignyanus*, aged 1 to 3 years old, were collected from the Aquaculture Station of the Mário Lopes Leão Hydroelectric Power Plant, AES - Tietê, located in the city of Promissão - SP (21 ° 17 '49 "S, 49 ° 47'0 "W). After collection, the animals were desensitized and anesthetized in benzocaine solution (CEUA-FEIS-UNESP N°12 / 2017). After anesthesia, the testicles were removed and later processed for light microscopy. Processing and analysis of the biological material after the collection were carried out at the Neotropical Ichthyology Laboratory - LINEO, at the Biology and Animal Science Department of the UNESP-FEIS campus of Ilha Solteira / SP. Histological analysis allowed the identification of three stages of testicular development for *B. orbignyanus*: Immature, Initial Maturation for 1 year old animals and Final Maturation for 2 and 3 year old animals. In the comparative analysis with ages of 1, 2 and 3 years, the proportion of species growth was higher in the first 2 years of life; the GSI shows a range of variation within the same reproductive phase, however, animals with two and three years of age, although they were in the same phase (Final Maturation) of the testicular development presented statistical differences in the GSI values, tending to accompany the age of the animal in an increasing manner; GSI is positively related to body mass and testicular gain (g), as well as to the growth (cm) and age of the animal. Stereological analysis showed that the proportion of spermatozoa in the lumen of the anastomosed tubules did not vary with the increase of GSI.

Keywords: Reproduction. Piracanjuba. Morphology. Spermatozoa.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar de <i>Brycon orbignyanus</i> (Valenciennes, 1950). Esquema ilustrativo dos parâmetros morfométricos de <i>B. orbignyanus</i> utilizados. Ct – comprimento total; Cp – comprimento padrão.....	23
Figura 2. Estação de aquicultura AES-Tietê, localizada na cidade de Promissão, SP. Detalhes dos viveiros de alvenaria onde os animais (<i>B. orbignyanus</i>) eram alocados de acordo com a idade.....	24
Figura 3. Procedimentos realizados desde a captura até a dissecação dos exemplares utilizados no presente trabalho.....	25
Figura 4. Parâmetros aferidos para o cálculo do Índice Gonadossomático (IGS). Wg - Massa da gônada e W - Massa Corporal.....	26
Figura 5. Esquema ilustrativo para fotoprocessamento e para a análise estereológica.....	26
Figura 6. ImageJ-Fiji, utilizado para a análise e contagem das células de interesse.....	27
Figura 7. Visão macroscópica da estrutura testicular de <i>Brycon orbignyanus</i> com 01 ano.....	28
Figura 8. Representação do ganho de massa corporal relacionada com Índice gonadossomático (IGS) de <i>Brycon orbignyanus</i> em animais jovens (1 ano de idade).....	29
Figura 9. Disposição do testículo de <i>Brycon orbignyanus</i> e divisão anatômica com dois anos.....	30
Figura 10. Representação do ganho de massa corporal relacionada com Índice gonadossomático (IGS) de <i>Brycon orbignyanus</i> em animais em maturação final.....	31
Figura 11. Relação do crescimento (comprimento padrão) como IGS em <i>Brycon orbignyanus</i> respectivos anos.....	32
Figura 12. Relação do crescimento (comprimento padrão) com o ganho de massa corpórea de <i>Brycon orbignyanus</i> respectivos anos.....	31

Figura 13. Gráficos de dispersão relacionado a massa testicular com a massa corporal referentes a <i>Brycon orbignyanus</i> com dois - A , e três ano- B de idade em maturação final.....	33
Figura 14. Corte histológico evidenciando microscopicamente a estrutura testicular de <i>Brycon orbignyanus</i> com 1 ano.....	34
Figura 15. Estrutura testicular de <i>Brycon orbignyanus</i> maduro.....	35
Figura 16. Estrutura macro e microscópica de exemplares de <i>Brycon orbignyanus</i> com dois e três anos de idade.....	36
Figura 17. Características histológicas da morfologia testicular de <i>Brycon orbignyanus</i>	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios dos parâmetros morfométricos das respectivas diferentes idades em <i>Brycon orbignyanus</i> . Cp - Comprimento padrão; Mc - Massa corporal; Mt - Massa testicular e IGS - Índice gonadossomático (%). Dados expressos em média e desvio padrão. * = $p \leq 0,05$	29
Tabela 2 – Correlação de Pearson com os parâmetros morfométricos aferidos em <i>B. orbignyanus</i> em idades distintas. M.C - Massa corporal; M. T - Massa testicular; IGS – Asterisco - Animais mais jovens com características imaturas, sem presença de espermatozoides na luz.....	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	13
1.1	Espécie modelo (<i>Brycon orbignyanus</i>)	15
1.2	Estrutura testicular	16
1.3	Espermatogênese em peixes	18
1.4	Índice gonadossomático	19
2	OBJETIVO GERAL	22
2.1	Objetivos Específicos	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Local e Animais	23
3.2	Processamento para Microscopia de Luz	25
3.3	Índice Gonadossomático – IGS	25
3.4	Análise estereológica (Contagem de espermatozoides)	25
3.5	Análise Estatística	27
4	RESULTADOS	28
4.1	Características e parâmetros morfométricos da estrutura testicular	28
4.2	Características histológicas da estrutura testicular	34
4.3	Estereologia	37
4.4	Análise Estatística	38
5	DISCUSSÃO	39
6	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Os peixes constituem o principal grupo de vertebrados, compreendendo mais de 50% de todas as espécies. Dentro dessa gama de espécies de peixes cerca 96% são teleósteos. Os teleósteos tem sido o grupo de peixes mais bem-sucedido desde que eles começaram a irradiar no Cretáceo. Podem ser encontrados em todos os ambientes aquáticos, desde águas geladas da Antártida, fossas abissais oceânicas, ambientes de maior altitude até fontes termais com temperaturas de até 44 °C, a lagos alcalinos e correntes ácidas (BONE; MARSHALL; BLAXTER, 1995; JOBLING, 1995; VAZZOLER, 1996).

O sucesso do grupo se deu devido à grande plasticidade na ocupação dos mais variados tipos de ambientes aquáticos e na diversidade de estratégias relacionadas a reprodução, no qual associada à gatilhos ambientais estimulam a liberação de hormônios que atuarão no desenvolvimento das gônadas (BREder; ROSEN, 1966; VAZZOLER, 1996; COWARD *et al.*, 2002).

As migrações de peixes a priori eram consideradas de forma simplificada, como adaptações no sentido de aumentar as oportunidades de alimentação e, conseqüentemente, a abundância da mesma (NILOLSY, 1963). Entretanto, a migração de peixes, em especial a “*piracema*”, é um fenômeno anual em que peixes migram em direção à cabeceira dos rios à procura de locais propícios, não só para a alimentação, mas principalmente para desova de sua prole. Configurando-se como um movimento de propagação a montante, seguida de uma dispersão a jusante de ovos, larvas e adultos (CAROLSFELD *et al.*, 2003; HILSDORF; MOREIRA, 2008).

Hilsdorf e Moreira (2008), explicam que fatores abióticos como luminosidade, temperatura, hidrologia, qualidade da água, entre outras variáveis, funcionam como gatilhos ambientais e combinados a uma disposição genética, são os principais fatores que influenciam e desencadeiam todos os processos fisiológicos envolvidos na migração/reprodução. Cardoso (1934, citado por GODINHO; GODINHO, 2003) foi um dos precursores em pesquisas voltadas para a reprodução induzida no Brasil, no qual ficou demonstrado a ação estimuladora da hipófise sobre os órgãos sexuais dos peixes.

Os gatilhos ambientais são captados pelos sistemas sensoriais: olhos, pineal, narinas, receptores cutâneos, entre outros, desencadeando e estimulando

assembleias de peixes com esse tipo de estratégia reprodutiva a uma corrida por locais mais aptos aos processos reprodutivos, defensivos ou alimentares. Após captados, estes são analisados e convertidos em sinais eletroquímicos e transmitidos via neurônios sensoriais até o hipotálamo, que por sua vez, desencadeiam todos os eventos fisiológicos que conduzirá a uma reprodução bem-sucedida (BLÁZQUEZ; SOMOZA, 2010; ZOHAR *et al.*, 2010).

Hilsdorf e Moreira (2008), destacam ainda que, o movimento migratório é considerado um comportamento imprescindível para modular a fisiologia reprodutiva das espécies migradoras. Sendo a reprodução controlada pelo eixo hipotálamo–hipófise–gônadas, que atua como um sistema em cascata de liberação de hormônios e neuro-hormônios que traduzem as condições ambientais para a fisiologia dos animais, definindo assim o sucesso reprodutivo dos indivíduos.

Espécies que apresentam esse tipo de estratégia reprodutiva são em sua maioria de grande porte e apresentam desova total, utilizando os ambientes lóticos como habitats para reproduzirem-se e por serem espécies de grande porte, são as mais valorizadas por sua importância econômica. Nessa descrição a maioria dos peixes neotropicais apresentam esse tipo de estratégia reprodutiva e os principais grupos no Brasil são os Siluriformes, Perciformes e Characiformes, este com maior riqueza de espécies, assim como as mais diversas estratégias (HOWES, 1982; CAROLSFELD, 2003; FERNANDEZ *et al.*, 2007).

Diante disso, é de suma importância a conservação da vegetação nativa para que o ciclo de vida de espécies com estratégias específicas não seja comprometido, pois ações antrópicas como, assoreamento causado pelo desmatamento pode alterar a composição do substrato, a dinâmica das corredeiras e os locais de desova, afetando a distribuição longitudinal e espacial para inúmeras espécies (AGOSTINHO; ZALEWSKI, 1996; BRITO; LAZZAROTTO; CARAMASCHI, 2016).

Suzuki *et al* (2004) chamam a atenção para a importância dos regimes das cheias para a manutenção de ambientes favoráveis para a reprodução de espécies migradoras, principalmente as de importância comercial, uma vez que o controle das cheias decorrente da operação de barragens a montante é, sem dúvida, a mais importante fonte de impacto, visto que reduzem as áreas alagáveis favorecendo a ocupação antropogênica da várzea, além de interceptar as rotas migratórias de peixes.

Essas espécies quando impedidas de migrarem, tendem a apresentar um bloqueio na reprodução e problemas principalmente nos aspectos relacionados à fisiologia reprodutiva (HONJI *et al.*, 2017). Com isso a manutenção dos ecossistemas fluviais se torna fundamental para o ciclo reprodutivo, uma vez que a criação de barreiras intransponíveis, como hidrelétricas, configura-se como a interferência antrópica de maior impacto, prejudicando ou extinguindo as poucas populações de espécies grandes migradoras (ROSA E LIMA, 2005; LIMA 2017)

1.1 Espécie modelo (*Brycon orbignyanus*)

A exemplos de espécies migradoras, a família Characidae destaca-se por ser um dos principais grupos que apresentam essa estratégia. Seus representantes apresentam uma ampla distribuição geográfica, principalmente na região neotropical, com diversas formas, tamanhos e táticas reprodutivas (CASTAGNOLLI, 1992; MOREIRA, 2003; LIMA, 2003; LIMA; ROSA, 2005; BAUMGARTNER *et al.*, 2012).

Como é o caso da piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). Esta espécie pertence a subfamília Bryconinae, com cerca de 46 espécies catalogadas sendo 41 pertencente ao gênero *Brycon*, segundo o Fishbase. Reis (*et al.*, 2003), ressalta que esta espécie é dependente de boas condições ambientais, sendo muito sensível a mudanças no ambiente. Com interesse para piscicultura por seu comportamento agressivo, carne saborosa e crescimento rápido (CECCARELLI, 2010).

Anatomicamente apresentam corpo fusiforme, com coloração prateada, com dorso cinzento-esverdeado, mancha umeral azulada, alongando-se no sentido do comprimento e nadadeira caudal vinho, com uma faixa mediana. As fêmeas atingem comprimento total de 80 cm e peso corporal de 8,2 kg, e os machos, 68 cm e 3,6 kg, respectivamente (GODOY, 1975).

Outrora foi um dos peixes mais importantes na bacia do Paraná, tanto na pesca profissional como amadora. Podendo ser encontrada nas bacias da Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil. No Brasil, a extensão de ocorrência original foi calculada aproximadamente em 1 milhão de km, contudo atualmente a espécie está caminhando para a extinção, estando restrita a apenas ao último trecho de rio livre do alto rio Paraná, sendo o declínio nas populações de aproximadamente 97% da extensão de

ocorrência original estando extinta na maior parte de sua área de ocorrência pretérita (LIMA, 2017).

Essa supressão se deu em decorrência dos efeitos da fragmentação do habitat devido à construção de hidrelétricas, levando a uma redução de fontes de alimento natural, como também a sobrepesca devido ao seu alto valor comercial, além de outras alterações ambientais produzidas pela atividade humana como, contaminação da água, introdução de espécies exóticas e desmatamento. Essas alterações levaram a espécie ao status de ameaçada de extinção (PAIVA, 1982; REIS *et al.*, 2003; AGOSTINHO *et al.*, 2004; NELSON, 2006; LOPERA-BARRERO, 2009; LIMA, 2017).

1.2 Estrutura testicular

Na maioria dos teleósteos, os testículos apresentam-se como órgãos pares, alongados, envoltos por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso, localizados dorsalmente na cavidade celomática. De acordo com a ordem pode haver diferenças anatômicas, contudo a maioria das espécies apresenta testículos pareados, filiformes e alongados que são caudalmente articulados em um ducto espermático (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2017).

A formação da estrutura testicular dos peixes se dá assim como nos demais vertebrados a partir da diferenciação das células do saco vitelínico que originarão as células primordiais. Estas sofrem um processo de migração das regiões extragonadais para a crista gonadal (OTONI *et al.*, 2005).

Nesse processo as células epiteliais têm um papel decisivo na formação do epitélio germinativo. Pois os cistos que caracterizam as gônadas masculinas são formados a partir da associação de complexos juncionais entre células epiteliais de cistos contíguos. Por meio da associação entre as células epiteliais (Pré-sertoli) de conjuntos de cistos vizinhos os túbulos seminíferos e consequentemente o epitélio germinativo que os reveste são originados (MAZZONI, 2009).

Microscopicamente os testículos dos teleósteos apresentam-se envolvidos por uma cápsula conjuntiva, a albugínea testicular, cuja espessura varia pouco ao longo do ciclo reprodutivo. Aos pares, convergem uns para os outros na extremidade caudal e seus curtos ductos espermáticos extra testiculares se unem próximo do orifício urogenital. A albugínea emite septos para o interior do órgão, delimitando e formando

os lóbulos e/ou túbulos seminíferos (GRIER, 1981; BILLARD *et al.*, 1982; NAGAHAMA, 1983; KOULISH *et al.*, 2002; GRIER; URIBE, 2009; ANDRADE *et al.*, 2009). A coloração e massas variam de acordo com o período, nutrição e desenvolvimento do animal (JAMES, 1946; ALEXANDRINO *et al.*, 1985).

A estrutura testicular é parcialmente endócrina, como as dos demais vertebrados, e assim, são responsáveis por várias características sexuais secundárias, que, no geral, manifestam-se durante a estação de reprodução (ORR, 1986). Mas de modo geral, após diferenciados e maduros sexualmente, mantêm-se formados por dois compartimentos: o compartimento germinativo, constituído pelo epitélio germinativo que margeia os lóbulos e túbulos testiculares, e o compartimento intersticial, ambos separados por uma membrana basal (Grier, 1981).

O epitélio germinativo apresenta dois grupos celulares, as células somáticas e as germinativas. As células somáticas como as células de Sertoli, contornam a periferia do túbulo e são envolvidas por uma membrana basal, essas células emitem projeções citoplasmáticas formando cistos no qual ocorrerá todo o desenvolvimento das células germinativas de forma sincrônica, além de apresentar células musculares lisas, vasos sanguíneos, fibras conjuntivas e grupos de células de Leydig, que são a principal fonte de esteroides no testículo (GRIER, 2002; NAGAHAMA, 1983).

Com o intuito de simplificar as classificações, Grier (1998), de acordo com as características da estrutura testicular descreveu dois grupo: testículos do tipo tubular anastomosado e do tipo lobular, sendo esse último tipo pode ser dividido em “restrito” ou “irrestrito” (GRIER, 1992; GRIER; LO NOSTRO, 2000; GRIER; URIBE, 2009; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2013). A organização tubular anastomosada dos testículos deve-se a fusão progressiva entre os conjuntos de cistos vizinhos nas gônadas em diferenciação e se continua com a anastomose dos túbulos nas gônadas já diferenciadas (MAZZONI, 2009).

Os testículos do tipo restrito, as espermatogônias restringem-se a região periférica dos lóbulos, os quais não apresentam lúmen testicular. Já no tipo testicular espermatogonial irrestrito, as espermatogônias distribuem-se de forma desordenada ao longo do túbulo seminífero (GRIER *et al.*, 1980).

E de acordo com a fase em que o animal se encontra, o epitélio pode ser caracterizado como sendo contínuo (com várias células da linhagem germinativa) e descontínuo (poucos cistos de células e muitas células de Sertoli), sendo comum que

o epitélio germinativo em animais em maturação intermediária, apresente as duas características (GRIER, 1993)

1.3 Espermatogênese em peixes

A espermatogênese é modulada pelas diversas estratégias reprodutivas apresentadas pelos peixes, levando a criação de várias escalas que são utilizadas para determinar o tanto o período de maturação gonadal, como as diferentes fases do ciclo reprodutivo. Pois assim como há diferentes estratégias, há também características que variam dentro de cada grupo (GODINHO, 1990).

Diversos autores descreveram a espermatogênese em peixes e a morfologia celular durante esse processo. No entanto, mesmo apresentando uma certa complexidade, esse processo é conservativo na maioria dos vertebrados, tendo seu início no epitélio germinativo. No qual nas fêmeas ocorre no epitélio das lamelas ovarianas e nos machos no epitélio dos túbulos seminíferos, a partir das oogônias ou espermatogônias respectivamente (BILLARD, 1986; GRIER, 2002; WELTZIEN *et al.*, 2002; GRIER; URIBE-ARANZÁBAL, 2009; SCHULZ *et al.*, 2009; CHAGAS *et al.*, 2016).

Tratando-se de machos, as espermatogônias são as células mais importantes, pois é a partir delas que todas as outras linhagens serão formadas, assim como a renovação do epitélio para um novo ciclo reprodutivo (DE ROOIJ; RUSSELL, 2000).

Todo o processo inclui uma sequência de alterações morfológicas e fisiológicas de diferenciação celular, no qual as espermatogônias transforma-se em espermatozoides. As espermatogônias se associam às células de Sertoli para formar espermatocistos ou cistos e a morfologia do epitélio germinativo tanto em machos, como fêmeas muda durante o ciclo reprodutivo anual, refletindo a sazonalidade reprodutiva (GRIER; URIBE-ARANZÁBAL, 2009).

De acordo com Schulz *et al.* (2010), esse processo pode ser dividido em três fases: espermatogonial ou proliferativa, meiótica e espermiogênica. Na primeira fase a espermatogônia sofre rápidas e sucessivas divisões mitóticas, a segunda caracteriza-se por ocorrer a duplicação do material genético, assim como a recombinação e segregação, com o surgimento de espermatócitos primários e secundários e na terceira fase as espermátides se diferenciam e sofrem alterações

morfológicas consideráveis, levando a formação do espermatozoide propriamente dito.

Diante da complexidade relacionada a cinética espermatogonial, De Rooij e Russell (2000), apresentaram uma revisão abordando todas as características desse processo, que mesmo sendo conservativo, segundo os autores são poucos os pesquisadores que dominam o campo, sendo necessário padronizar essa nomenclatura para que seja melhor compreendido.

Visando a eficiência reprodutiva dos peixes, Souto *et al.* (2017) reforça que o conhecimento básico acerca da biologia reprodutiva e de caracteres morfológicos, são ferramentas fundamentais no estabelecimento de protocolos, pois alguns mecanismos envolvidos na reprodução são espécies-específicos e ainda não compreendidos.

Grier (2002), criou uma classificação simples, observando as características do epitélio ao longo do ciclo reprodutivo, uma vez que este apresenta-se de forma contínua e descontínua, classificou por meio de análises macro e microscópicas as seguintes fases do ciclo testicular. E estas foram a base para a classificação dos tipos celulares encontrados nos animais usados nesse trabalho.

- Maturação inicial: o epitélio germinativo todo contínuo, com presença de todos os tipos celulares;
- Maturação intermediária: A descontinuidade do epitélio germinativo já pode ser observada nesta fase, porém, todos os tipos celulares ainda podem ser identificados;
- Maturação final: Epitélio todo descontínuo, muitos espermatozoides no lúmen, já sendo fagocitados por células de Sertoli e poucos espermatocistos;
- Regressão: Espermatogônias residuais podem ser observadas dispersas no epitélio, assim como a descontinuidade é mais evidente. Com reabsorção dos corpos residuais;
- Regredido: O epitélio é repleto de espermatogônias.

1.4 Índice gonadossomático

Os peixes sofrem modificações morfoestruturais significativas ao longo da vida, modificações essas que são observadas principalmente à medida que o animal se

aproxima da maturação sexual e de acordo com a estratégia reprodutiva. A exemplo dos que realizam migrações para reproduzir, que podem apresentar mudanças no formato do corpo de acordo com as necessidades do nado (BONE; MARSHALL; BLAXTER, 1995).

Essas modificações são mais acentuadas em espécies com ciclo reprodutivo anual, no qual essas modificações são mais marcantes, refletindo diretamente em suas gônadas (NIKOLSKI, 1963). Principalmente no que diz respeito ao seu peso, decorrente, em grande parte, do acúmulo de material de reserva nos ovócitos no caso das fêmeas (VAZZOLER, 1996).

O índice gonadosomático [$IGS = (\text{peso da gônada} / \text{peso do peixe}) \times 100$] tem sido amplamente utilizado na ciência pesqueira e em estudos reprodutivos experimentais como uma medida simples e de baixo custo da condição reprodutiva. No entanto, suas propriedades não foram totalmente avaliadas, e várias armadilhas, como dependência de tamanho e mudanças na alometria gonadal, podem levar a erros, sendo necessário associar sempre a análises histológicas (SOMARAKIS *et al.*, 2004).

Este índice desde que foi padronizado (MCQUINN, 1989), vem sendo utilizado como importante ferramenta na determinação do período reprodutivo. Associando este à análises a nível histológico, auxilia na compreensão dos aspectos e processos reprodutivos e na compreensão da diversidade de estratégias reprodutivas utilizadas por diferentes grupos, assim como para compreender a dinâmica dos ciclos reprodutivos de diversas espécies de peixes (JAMES, 1946; BOSSEMEYER; HALL, 1980; ISSAC-NAHUM; VAZZOLER, 1987; VAZZOLER, 1996; GRIER; THAYLOR, 1998).

De acordo com James (1946) existe uma relação definida entre as condições das gônadas e as condições do peixe. O autor fez uma correlação entre análises histológicas, IGS e elevação da temperatura, sendo que este último reflete diretamente no estado nutricional, assim como na idade do peixe. Este também pode apresentar uma correlação positiva quando comparado com tamanho do peixe, sendo sua aplicação mais usadas em fêmeas, pois em machos nem sempre representa corretamente a condição reprodutiva (HICKLING, 1940 citado de ISSAC-NAHUM; VAZZOLER, 1987; NIKOLSKY, 1963; VAZZOLER, 1992; 1996).

Diversos e outros autores observaram que em machos, durante processo de maturação os valores de IGS aumentam de forma gradativa, com maiores picos nos estágios avançados da maturação, e os menores valores são atribuídos aos estágios de repouso (AZEVEDO; BARBIERI; BARBIERI, 1988; FERREIRA; GODINHO, 1990). Em sistemas de cultivo, machos apresentam IGS mais alto, assim como apresentam melhor desempenho reprodutivo quando cultivados na presença das fêmeas (NAVARRO *et al.*, 2006)

De acordo com Barbieri e Santos (1988) as variações do índice gonadossomático tende a acompanhar as modificações estruturais das gônadas nos diferentes estágios de maturação. IGS ao longo dos anos vem sendo usado para indicar apenas o período reprodutivo, uma vez que através de uma equação simples, usando medidas morfométricas e peso da uma estimativa quase que precisa das diversas fases do desenvolvimento gonadal (QUEROL; QUEROL; GOMES, 2002)

Estudos recentes baseados em modelos estatísticos e no método gonométrico apontam que o IGS pode ser usado como uma ferramenta precisa na determinação da maturidade, se tornando uma alternativa mais rápida, barata e precisa. O método gonométrico é baseado em medidas diretas do índice gonadossomático (IGS) e a precisão dos resultados é comparável aos métodos microscópicos (FLORES *et al.*, 2019).

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar as alterações e correlações dos Índice gonadossomático (IGS) e parâmetros testiculares da piracanjuba *Brycon orbignyanus* de 3 diferentes idades, para uma melhor compreensão do desenvolvimento reprodutivo da espécie.

2.1 Objetivos Específicos

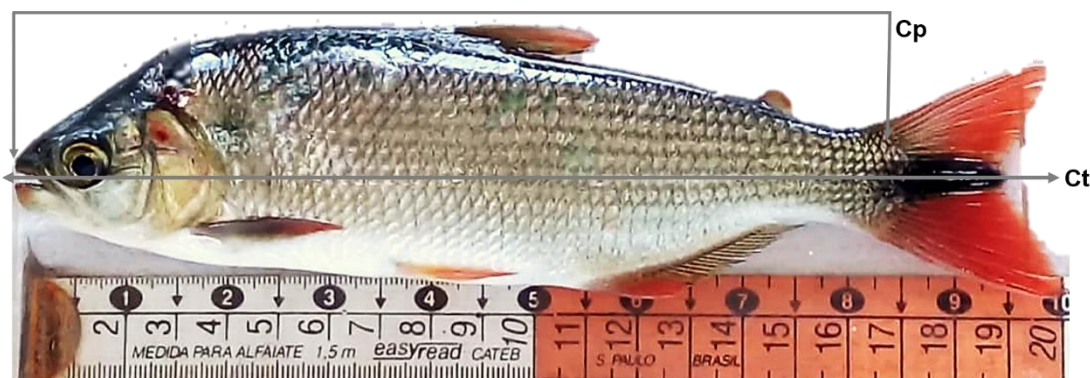
- Calcular os valores do Índice Gonadossomático (IGS) nas diferentes idades;
- Definir a fase do desenvolvimento testicular nas diferentes idades;
- Realizar análises comparativas dentro da mesma fase reprodutiva, levando em consideração a idade do animal;
- Realizar a análise estereológica comparativa dos espermatozoides nas diferentes idades.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Animais

Trinta exemplares de *B. orbignyanus* (Figura 1), oriundos da Estação de Aquicultura da Usina Hidrelétrica Mário Lopes Leão, A.E.S - Tietê, localizada na cidade de Promissão-SP (21° 17' 49" S, 49° 47' 0" W), em conjunto com a empresa da Big Peixe LTDA-ME, foram capturados para o presente trabalho. Para determinar a data da coleta levou-se em consideração o período reprodutivo da espécie que se inicia entre o final da primavera e início do verão, com isso optou-se por fazer as mesmas no mês de dezembro (21/12/2017), início do verão.

Figura 1 - Exemplar de *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1950). Esquema ilustrativo dos parâmetros morfométricos utilizados. **Ct** – comprimento total; **Cp** – comprimento padrão.

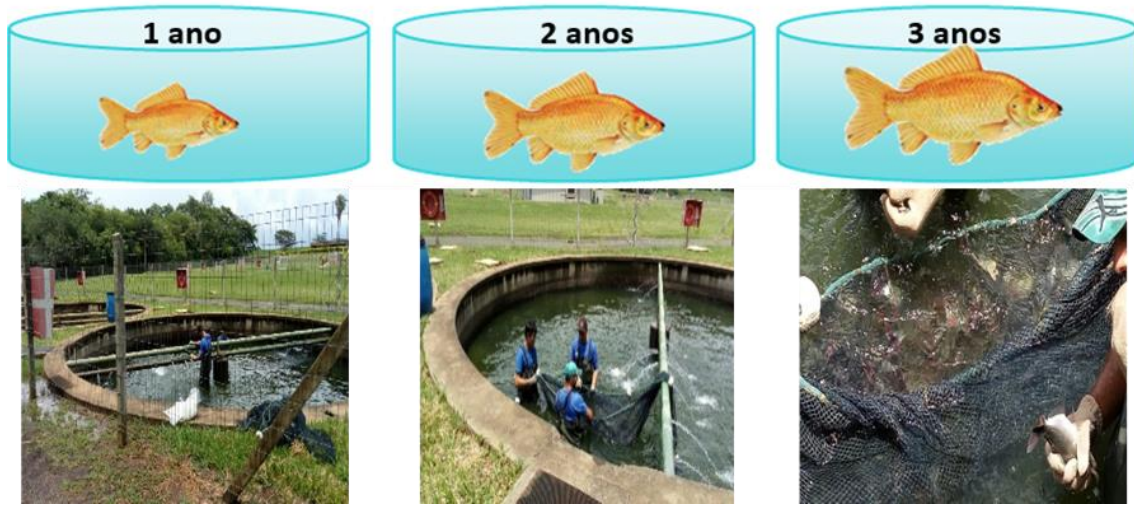


Fonte: Própria autora.

Dentro da estação de aquicultura os peixes eram alocados em viveiros de alvenaria, independentes e separados de acordo com a idade que cada grupo se encontrava (Figura 2). As médias das temperaturas anuais variaram entre 20,1°C e 25°C e a média mensal de 29°C para o mês da coleta. Com auxílio de puçás todos os exemplares foram capturados e posteriormente separados de acordo com a idade em três grupos com dez animais cada, sendo os peixes com 1, 2 e 3 anos.

A sexagem para a coleta de machos de *B. orbignyanus* foi determinada a partir da análise ao tato da aspereza da nadadeira anal, no qual a presença de espículas na nadadeira anal pode ser usada como um carácter sexual secundário em machos durante o período reprodutivo.

Figura 2 - Estação de aquicultura AES-Tietê, localizada na cidade de Promissão, SP. Detalhes dos viveiros de alvenaria no qual os animais (*Brycon orbignyanus*) eram alocados de acordo com a idade.

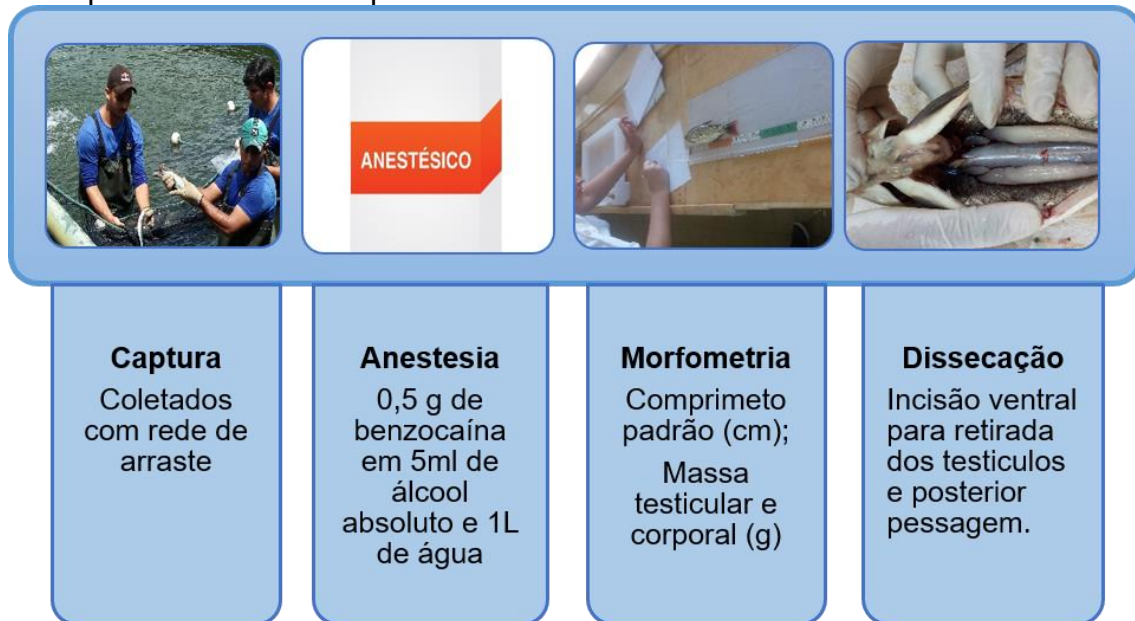


Fonte: Própria autoria.

Após a coleta e sexagem, os animais foram insensibilizados e eutanasiados em solução de benzocaína obtida a partir da diluição de 0,5 g de benzocaína em 5ml de álcool absoluto e 1L de água, seguindo o protocolo aprovado pelo CEUA-FEIS-UNESP Nº12/2017. Após anestesiados os parâmetros morfométricos como massa corporal (g) e testicular (g), comprimento total e padrão (cm) foram aferidos. Por meio de uma incisão ventral no sentido póstero-anterior, com auxílio de pinças, tesouras e bisturi os testículos foram retirados, sendo aferida a massa testicular de cada peixe, como representado nas figuras 3.

Os testículos foram seccionados transversalmente na região mediana e os fragmentos foram fixados em solução de paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 2%, sendo posteriormente processados para microscopia de luz. Os processamentos e a análises do material biológico após a coleta foram realizadas no Laboratório de Ictiologia Neotropical - LINEO, no Departamento de Biologia e Zootecnia do campus da UNESP (FEIS) de Ilha Solteira/SP.

Figura 3 - Procedimentos realizados desde a captura até a dissecação dos exemplares utilizados no presente trabalho.



Fonte: Própria autora.

3.2 Processamento para Microscopia de Luz

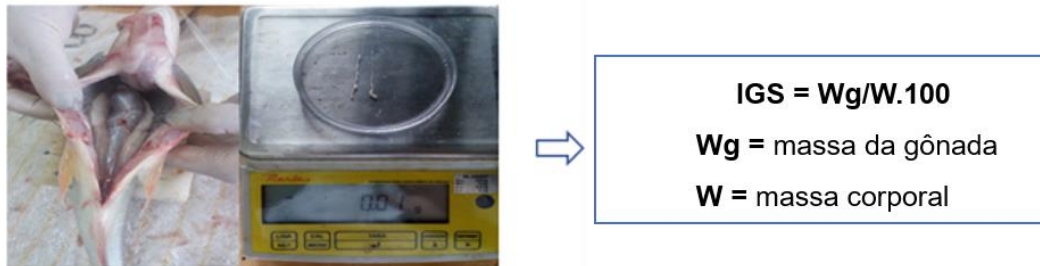
Para as análises da estrutura testicular as amostras passaram um processo de desidratação em soluções com graduações crescentes de álcool de (70 a 100%). Após foram incluídas em glicolmetacrilato (Technovit 7100/historesina, HeraeusKulzer, Wehrheim, Alemanha) e microtomadas com auxílio de um micrótomo (LEICA RM 2145, Leica Instruments GmbH, Heidelberg Nussloch, Alemanha), equipado com uma lâmina de vidro em secções de 3,0 μ m e corados com hematoxilina/eosina (H.E). O fotoprocessamento e as análises das imagens foram efetuadas em microscópio óptico Zeiss composto por uma câmera digital MOTIC (Moticam 2300 CCD, 3.0 M. pixel).

3.3 Índice Gonadossomático – IGS

As massas dos testículos foram utilizadas para o cálculo do índice gonadossomático (IGS), que determinou a relação da massa gonadal com a massa corpórea do animal, indicando seu estágio reprodutivo. Este índice expressa a porcentagem das gônadas em relação à massa corporal, obtido em porcentagem

(VAZZOLER,1981; 1996) (Figura 4). Os dados obtidos foram tabelados e expressos graficamente.

Figura 4 - Parâmetros aferidos para o cálculo do índice Gonadosomático (IGS). Wg - Massa da gônada e W - Massa Corporal.

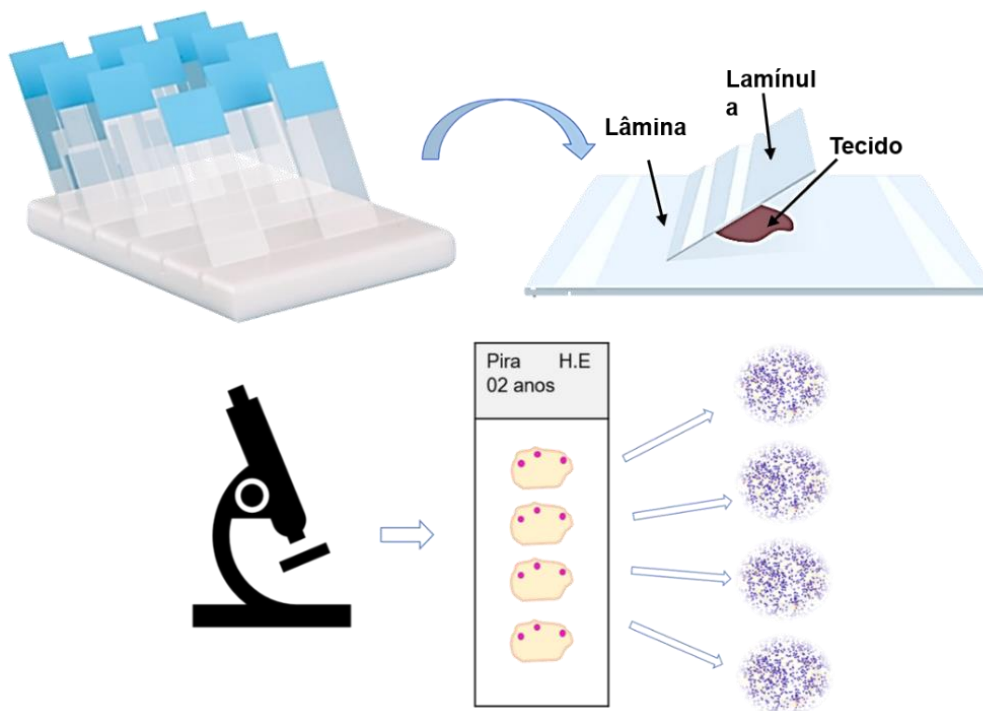


Fonte: Própria autoria.

3.4 Análise estereológica (Contagem de espermatozoides)

Após confeccionadas as lâminas histológicas, os campos de interesse foram fotografados. Em cada lâmina foram alocados quatro cortes transversais, e identificados os pontos com espermatozoides na luz, esses foram fotografados em quatro partes previamente escolhidas (Figura 5).

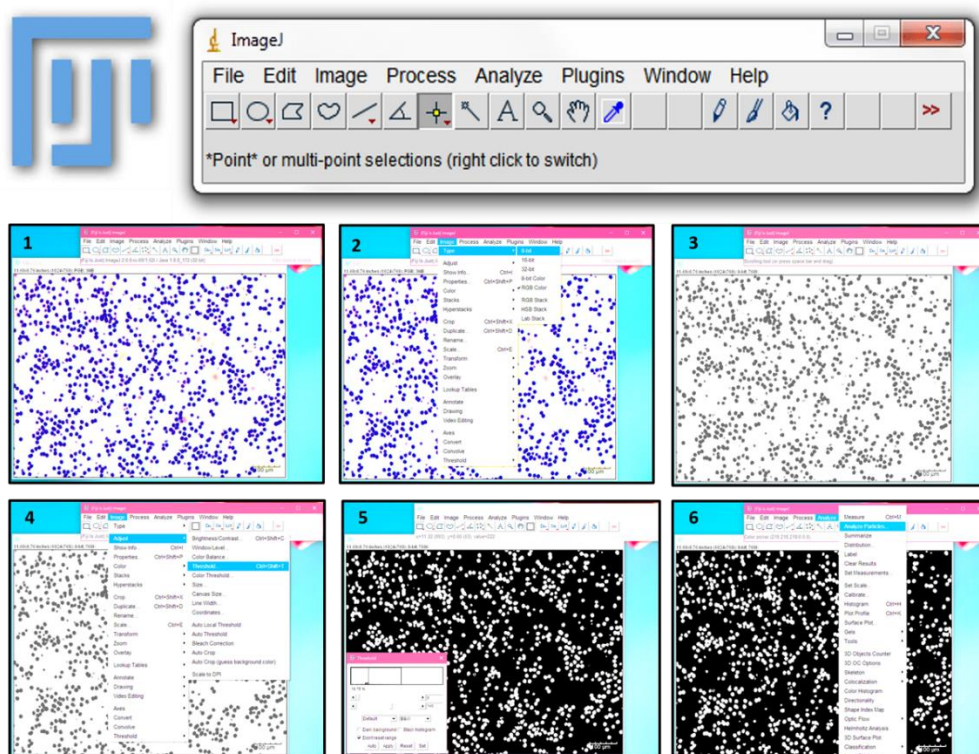
Figura 5 - Esquema ilustrativo para fotoprocessamento e para a análise estereológica.



Fonte: Kasvi (2018).

O software utilizado para a análise das imagens foi o ImageJ na versão Fiji, disponível gratuitamente. Para estimar o valor da proporção de espermatozoides na luz por corte, a imagem colorida em 32 bits foi transformada em imagem colorida de 8 bits utilizando a paleta de cores foi desenvolvida por Grove e Jerram (2011). A etapa seguinte consistiu na binarização das imagens: no qual a cor preta representando o lúmen e os pontos brancos representando os espermatozoides na luz dispersos ao longo do epitélio (Figura 6).

Figura 6 - ImageJ-Fiji, utilizado para a análise e contagem das células de interesse.



Fonte: ImageScience.Org (modificado pela autora).

3.5 Análise Estatística

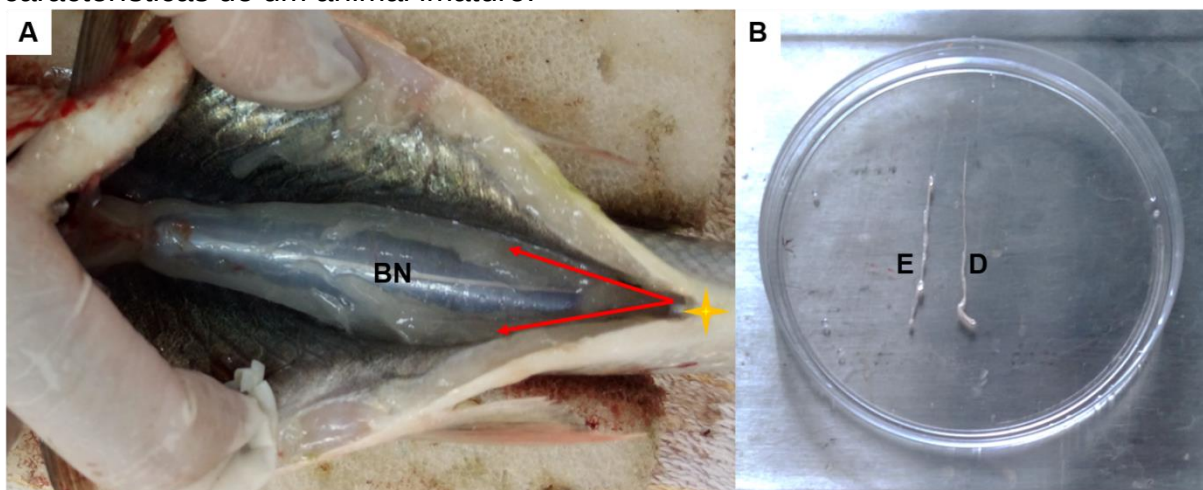
As estatísticas foram realizadas com o auxílio do software RStudio, um ambiente de desenvolvimento integrado gratuito e de código aberto. A homogeneidade e normalidade foram verificadas pelos testes de Bartlett e Shapiro-Wilk. Para os dados não paramétricos foi aplicado o teste Kruskal Wallis. Nos resultados com diferenças significativas foi aplicado a análise de variância (ANOVA) e o teste T ($p < 0,5$). Para exprimir o grau de relação entre as variáveis analisadas, foi feita a Correlação de Pearson entre os três grupos de peixes.

4 RESULTADOS

4.1 Características e parâmetros morfométricos da estrutura testicular

A morfologia dos testículos da piracanjuba segue o padrão similar ao apresentado pela maioria dos Characiformes neotropicais. Animais com um ano de idade, macroscopicamente apresentaram testículos filiformes, translúcidos, pouco vascularizado, sem vestígios de líquido seminal, sendo quase indistinguível da gordura abdominal, encontrando-se na fase de imaturos, e/ou em maturação inicial (Figura 7).

Figura 7 - Visão macroscópica da estrutura testicular de *Brycon orbignyanus*. Disposição do testículo (Seta dupla) ao longo da bexiga natatória (BN), e características de um animal imaturo.



Fonte: Própria autora.

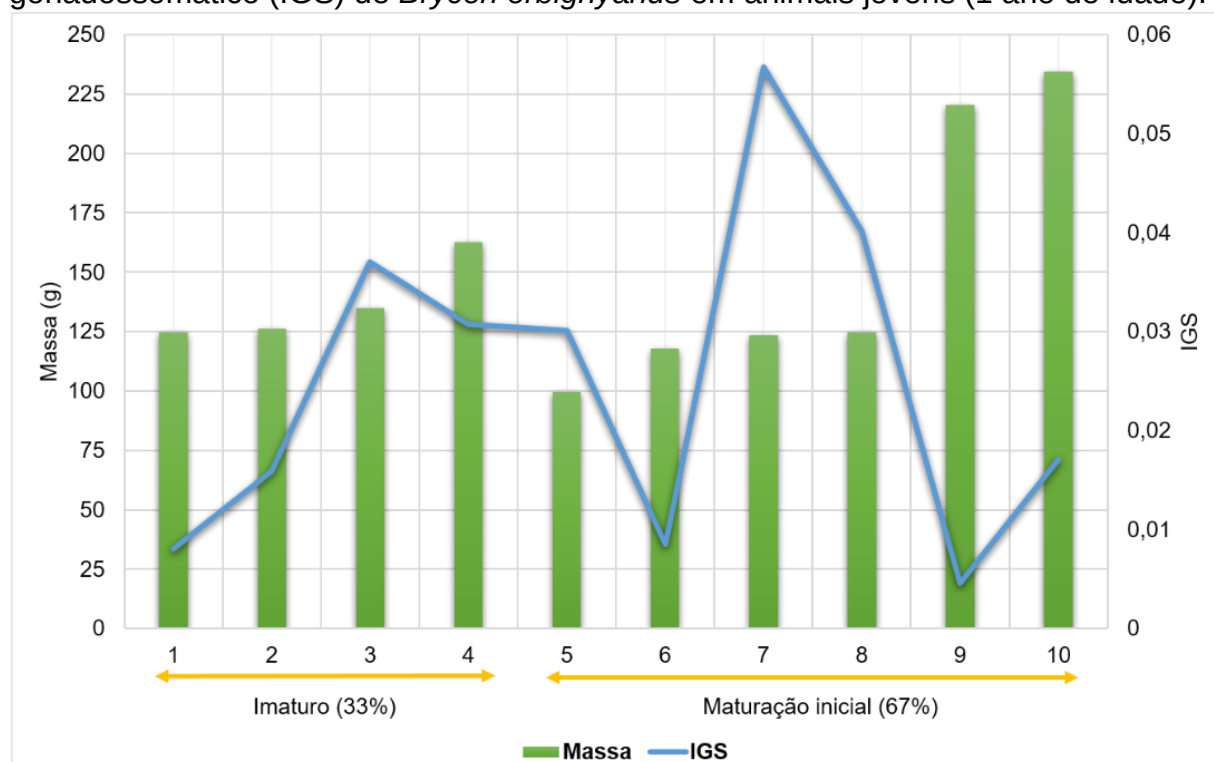
As variações e valores referentes aos parâmetros morfométricos analisados, evidenciaram que o índice gonadossomático correspondeu a cerca de 0,01% da massa corporal dos exemplares com um ano de idade, não sendo observado diferenças estatísticas em relação a massa ou IGS (Tabela 1).

Tabela. 1 - Valores médios dos parâmetros morfométricos das respectivas diferentes idades em *Brycon orbignyanus*. Cp - Comprimento padrão; Mc - Massa corporal; Mt - Massa testicular e IGS - Índice gonadossomático (%). Dados expressos em média e desvio padrão. * = $p \leq 0,05$. Fonte: Própria autora

Idade	Cp (cm)	Mc (g)	Mt (g)	IGS (%)
1 ano	21,00 $\pm$ 2,21 c	147,41 $\pm$ 53,18 c	0,04 $\pm$ 0,03 c	0,02 $\pm$ 0,01 c
2 anos	27,55 $\pm$ 2,26 b	292,98 $\pm$ 74,99 b	4,11 $\pm$ 1,61 b	1,37 $\pm$ 0,24 b
3 anos	30,65 $\pm$ 0,88 a	423,06 $\pm$ 42,49 a	8,12 $\pm$ 1,33 a	1,93 $\pm$ 0,36 a

Vale ressaltar que, para que não houvesse variações no período reprodutivo as coletas dos dados foram realizadas no mesmo dia para os três grupos em questão. A análise do IGS em relação a massa e tamanho dos animais, apresentou ainda um simultâneo crescimento quando comparado os dois parâmetros (massa e IGS) (Figura 8).

Figura 8. Representação do ganho de massa corporal relacionada com Índice gonadossomático (IGS) de *Brycon orbignyanus* em animais jovens (1 ano de idade).

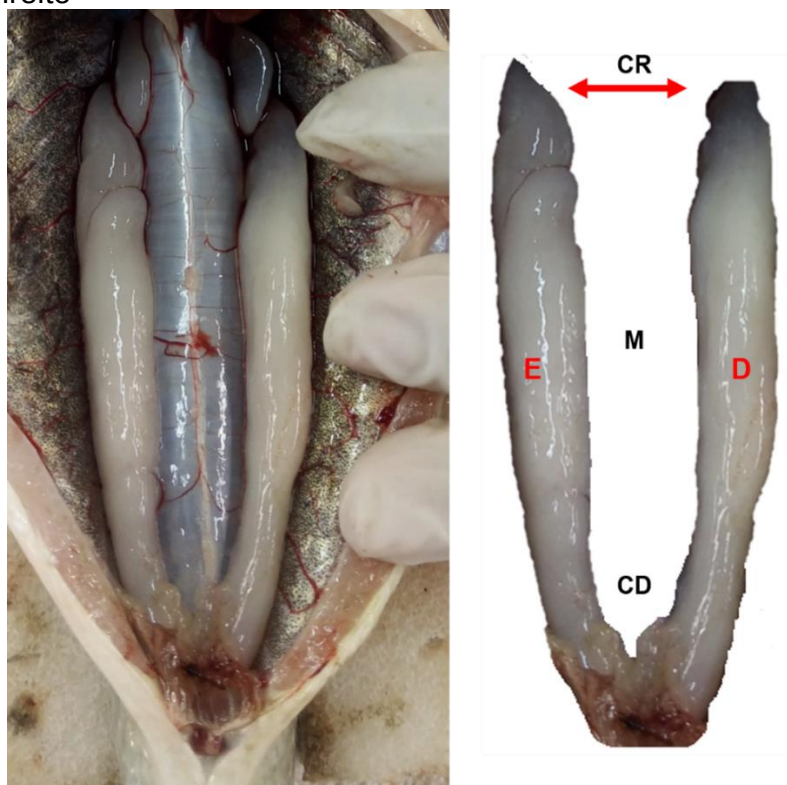


Como demonstra a figura acima, dos dez exemplares *Brycon orbignyanus* analisados com um ano de idade a, cerca de 33% apresentava-se com características de animais imaturos, e 67% entrando em fase maturação inicial, dando início ao seu primeiro ciclo reprodutivo. Já em relação ao tamanho em que estes apresentavam, a

média apresentada foi de 24 cm, tanto para animais imaturos, como para maturação inicial, diferindo apenas em relação ao IGS, que para animais imaturos, este tende a acompanhar o crescimento/ganho de massa, e os em maturação inicial observa-se que não há alocação de energia, observando-se picos de IGS de acordo com a massa corporal analisada.

Nos exemplares com dois e três anos de idade, os testículos macroscopicamente apresentavam-se aos pares, alongados e achatados dorso ventralmente, superfície lisa, apresentando porção medial e duas extremidades, cranial e caudal, acompanham o eixo longitudinal da cavidade abdominal, unidos posteriormente e delimitados por um mesentério à superfície ventral da bexiga natatória, individualizados em toda sua extensão unindo-se na extremidade caudal formado um ducto espermático comum, abrindo-se na papila urogenital lisa. De acordo com a fase, seus volumes, formas e colorações variando com o desenvolvimento gonadal (Figura 9).

Figura 9. Disposição do testículo de *Brycon orbignyanus* e divisão anatômica. **CR** – região cranial; **CD** – região caudal; **M** – região medial; **E** – testículo esquerdo; **D** – testículo direito

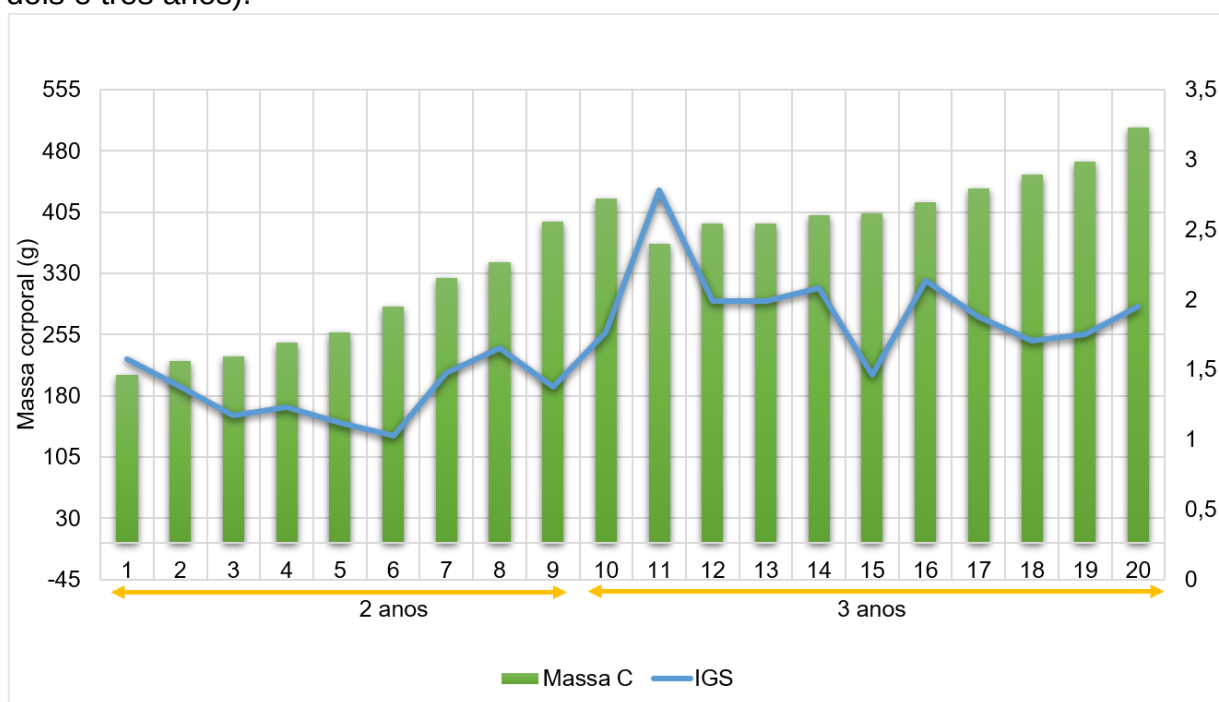


Fonte: Própria autora.

Por serem espécies reofílicas e estarem dentro do período reprodutivo, apresentavam ainda testículos com aspecto túrgido e coloração branco leitosa, com presença abundante de líquido seminal durante a dissecação, indicando intensa atividade proliferativa, evidenciando estarem na fase de maturação final características estas que indicavam que o animal estava apto a espermiação.

Em relação as análises dos parâmetros morfométricos, o ganho de massa relacionado com o IGS foi de aproximadamente 0,12% aos dois anos e de 0,45% aos três anos (Figura 10). Observa-se que em relação a massa corporal e IGS, há uma sutil progressão com o ganho de massa corporal, apresentando diferenças em relação a idade dos animais, com um crescimento de aproximadamente 1,45% no valor do IGS de um para dois anos e 70,98% de dois para três anos.

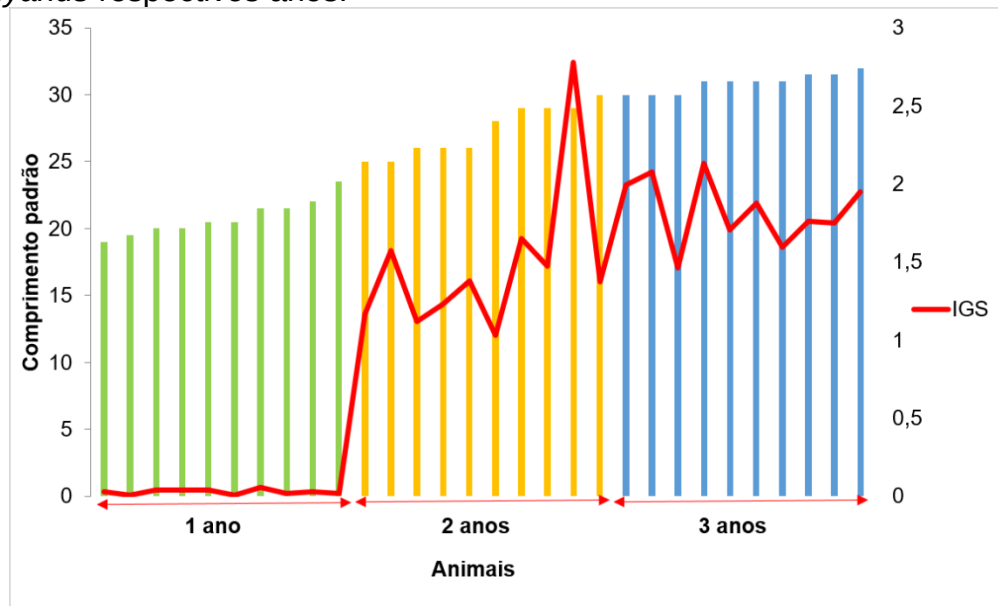
Figura 10. Representação do ganho de massa corporal relacionada com Índice gonadossomático (IGS) de *Brycon orbignyanus* em animais em maturação final. Aos dois e três anos).



Fonte: Próprio autora.

O IGS independente da fase de desenvolvimento testicular, acompanha o crescimento do animal, como observado na figura 11. Observa-se que à medida que o animal cresce (cm), o IGS acompanha esse desenvolvimento, com taxa de crescimento (cm) entre o 2º e 3º ano foi de cerca de 30% e 12% respectivamente.

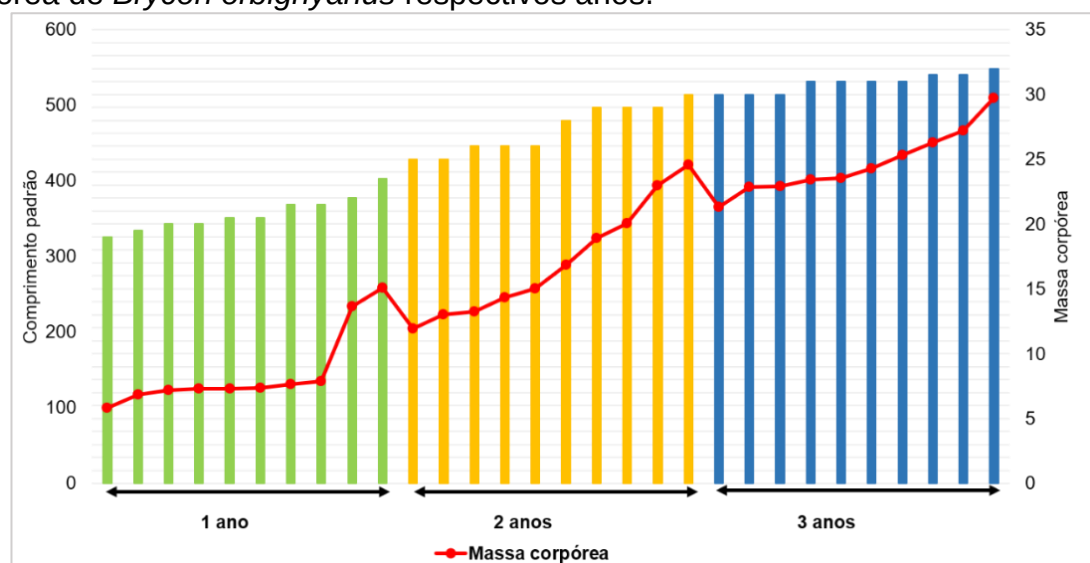
Figura 11 - Relação do crescimento (comprimento padrão) como IGS em *Brycon orbignyanus* respectivos anos.



Fonte: Própria autora

Relacionando o comprimento padrão e massa corporal com a idade, foi observado uma progressão no ganho de massa corporal, que ocorreu ao longo dos anos, no qual os valores apresentados do primeiro para o segundo ano foram de aproximadamente 98%, e entre o segundo e terceiro ano de aproximadamente 44% (Figura 12).

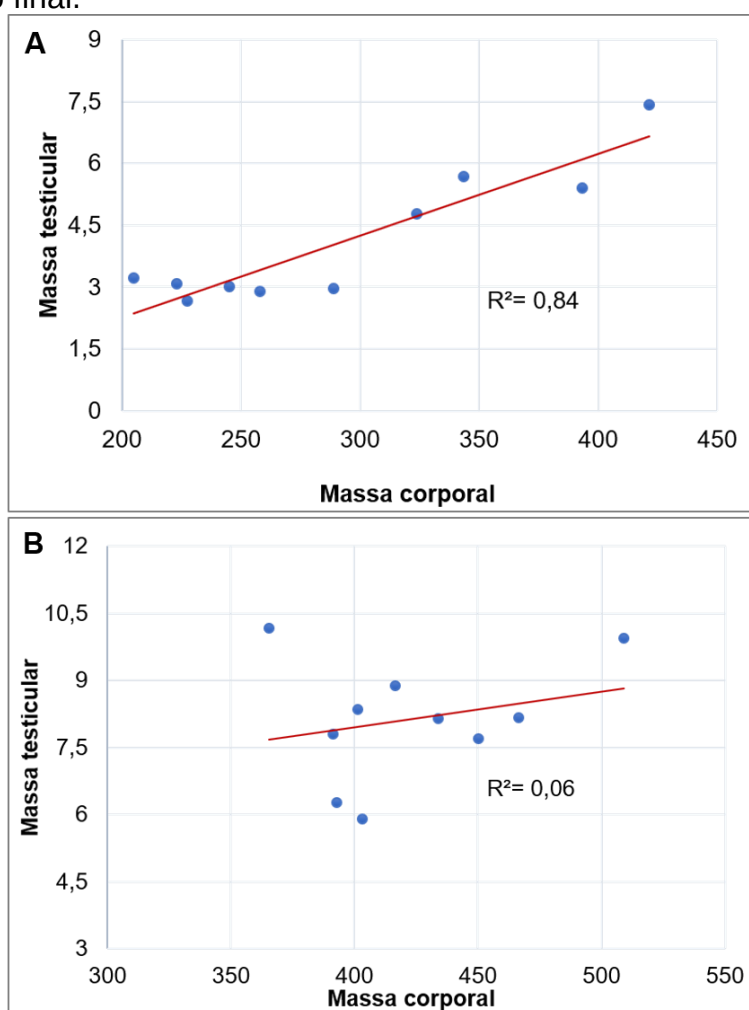
Figura 12 - Relação do crescimento (comprimento padrão) com o ganho de massa corpórea de *Brycon orbignyanus* respectivos anos.



Fonte: Próprio autor.

Na tabela 1 pode-se observar que houve diferenças estatísticas com relação a massa testicular, ocorrendo uma variação em relação as três diferentes idades, assim como nos demais parâmetros. A análise estatística do IGS (relação da massa testicular com a massa corpórea do animal), demonstrou que além do aumento progressivo no decorrer dos anos, com diferença estatística entre os três grupos de idades diferentes, também houve diferenças no IGS nos indivíduos que se apresentavam dentro da mesma fase de desenvolvimento testicular (Figura 13).

Figura 13 - Gráficos de dispersão relacionado a massa testicular com a massa corporal referentes a *Brycon orbignyanus* com dois -**A**, e três ano-**B** de idade em maturação final.



Fonte: Próprio autora.

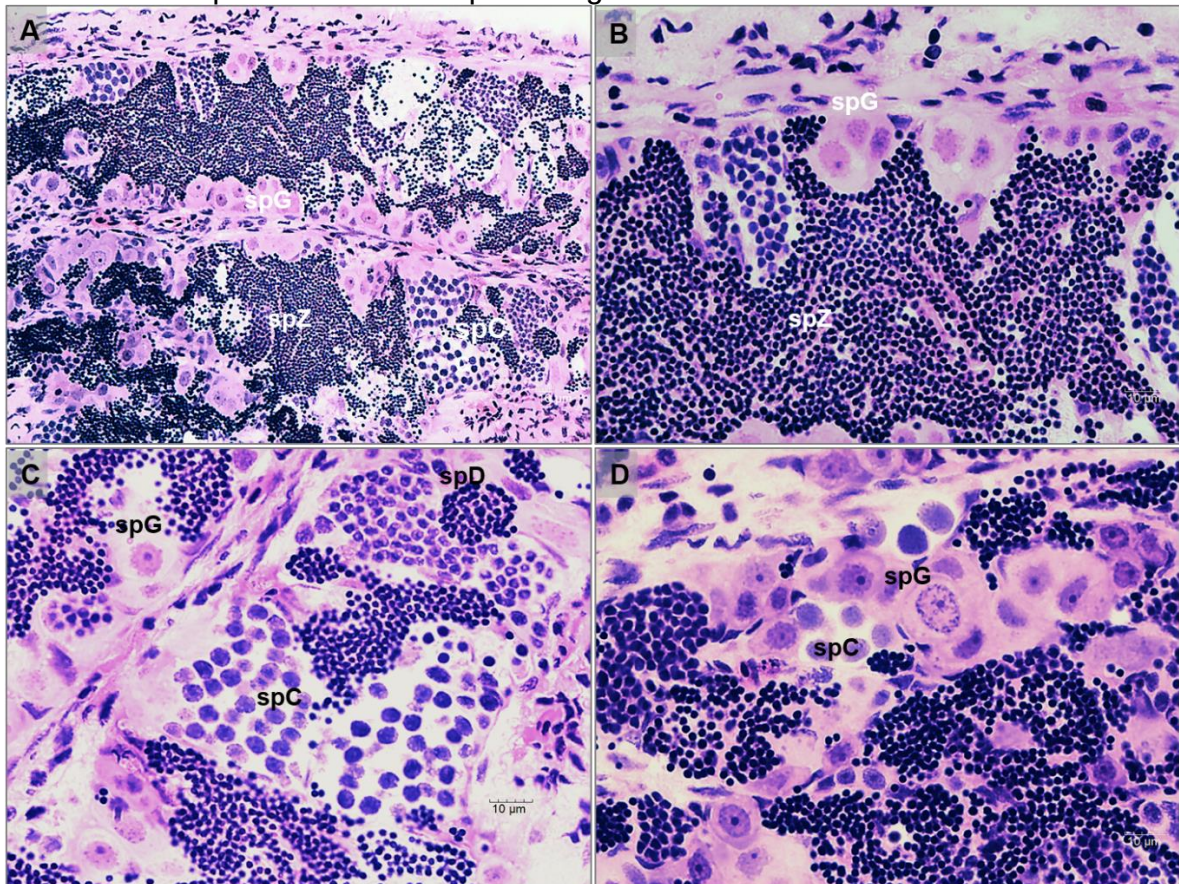
O ganho de massa testicular tende a se manter estável em animais mais velhos (03 anos), se comparado com os exemplares de dois anos. Mesmo os animais com dois e três anos estando dentro da mesma fase de desenvolvimento, observa-se uma

sobreposição dentro da mesma fase. Essa sobreposição com relação ao índice gonadossomático e a idade dos animais, evidencia que este índice está relacionado também com a idade do animal.

4.2 Características histológicas da estrutura testicular

Os animais com um ano de idade, apresentaram presença de muitos cistos em desenvolvimento, testículo com túbulos longos, cordões espermatogoniais assim como presença de espermatozoides no lúmen, características que o classificam como um animal entrando no primeiro ciclo. Algumas regiões apresentavam epitélio definido, cordões com pouquíssimas espermatogonias, cistos dispersos, espermatozoides escassos espalhados mais na periferia, vasos sanguíneos, ausência de luz (Figura 14).

Figura 14- Visão macro e microscópica da estrutura testicular de *Brycon orbignyanus* com 1 ano. **A-** Visão geral do corte histológico longitudinal de animais com um ano. **B-** Presença de espermátides (**spD**) E espermatozoides (**spZ**) e muitas espermatogônias (**spG**) dispersas ao longo de todo epitélio; **C-** Espermatócitos (**spC**) evidentes no epitélio e muitas espermatogonias.

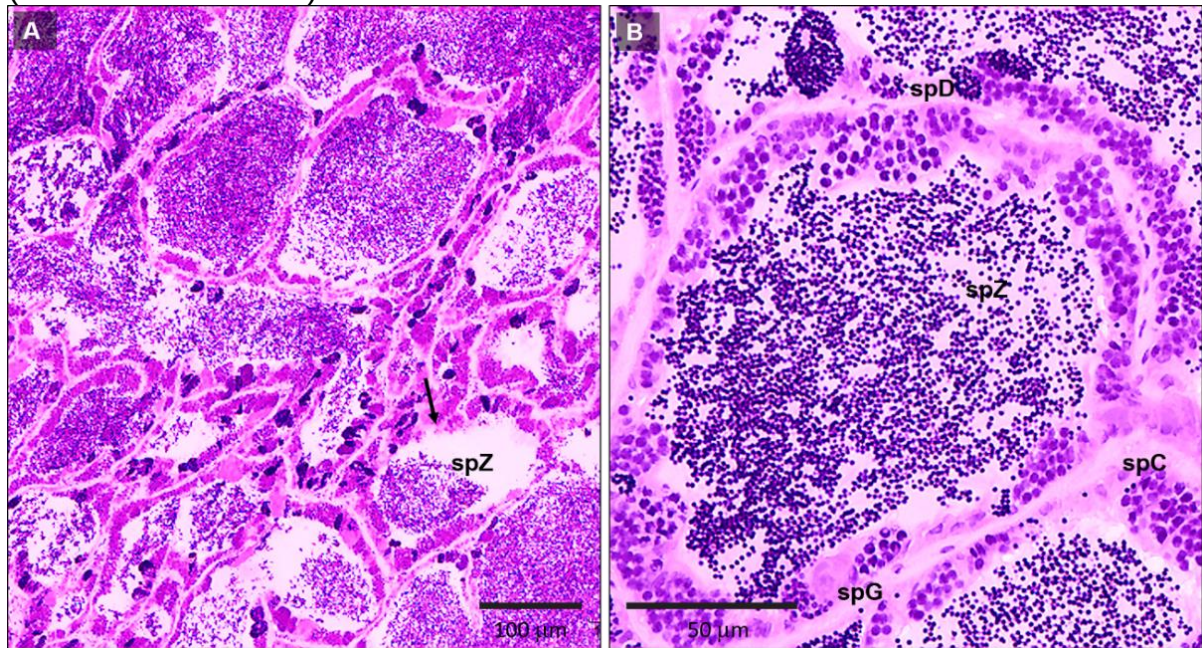


Fonte: Própria Autora

A análise histológica permitiu identificar os testículos como do tipo tubular anastomosado, e as células envolvidas no processo de espermatogênese foram observadas ao longo das fases. Sendo essas identificadas de acordo com as características nucleares e de condensação da cromatina que cada grupo celular apresentava.

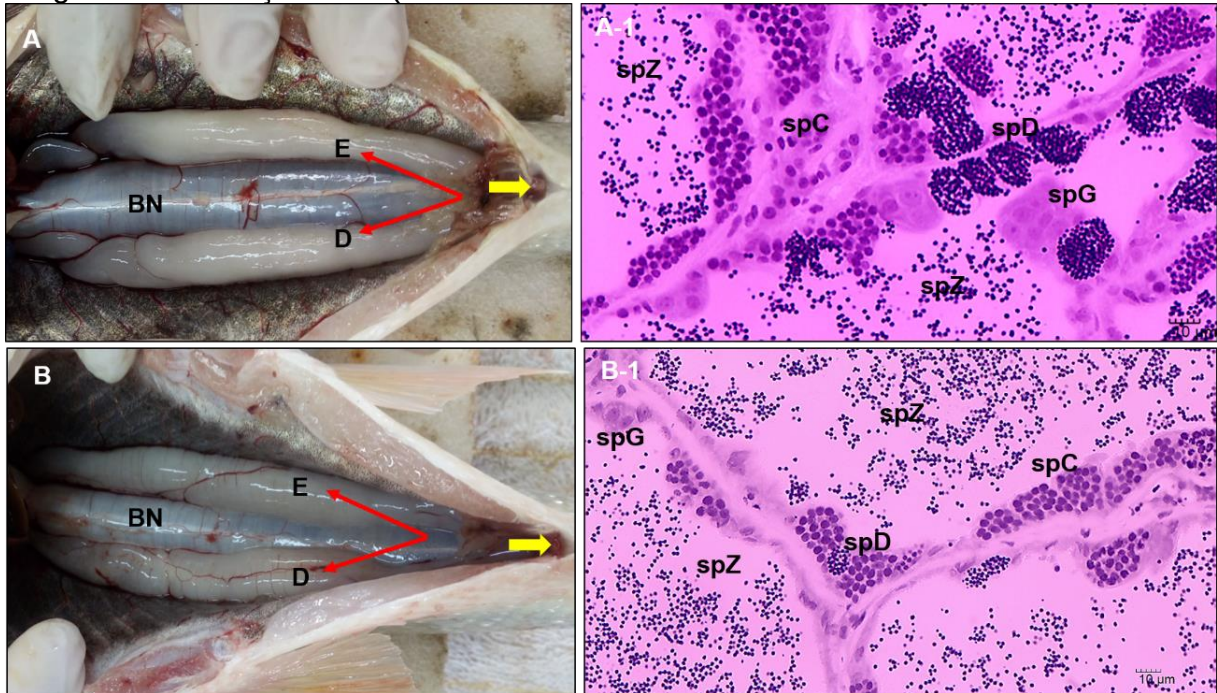
Os animais com dois e três anos, apresentaram em seu epitélio presença de grande quantidade de espermatozoides na luz dos túbulos seminíferos. Epitélio com evidente descontinuidade, indicando que estavam na fase testicular de “Apto a reprodução/Maturação final”. Poucas espermatogônias foram observadas dispersas ao longo do epitélio germinativo (Figura 15 e 16).

Figura 15 - Estrutura testicular de *Brycon orbignyanus* maduro. **A**- Disposição e delimitação dos túbulos; **B**- cistos de células germinativas. **spG** - espermatogônia; **spC** - espermatócito; **spD** - espermátide; **spZ** – espermatozoide. Coloração: H.E (Hematoxilina/eosina).



Fonte: Própria autora.

Figura 16 - Estrutura testicular de *Brycon orbignyanus*. **A e B**. animais com dois e três anos de idade. **BN** - bexiga natatória; **E** - testículo esquerdo; **D** - testículo direito; **spG** - espermatogônia; **spC** - espermatócito; **spD** - espermátide; **spZ** - espermatozoide; **seta dupla** – indicação dos testículos na cavidade celomática, **seta amarela** – papila urogenital. Coloração: H.E (Hematoxilina/eosina).

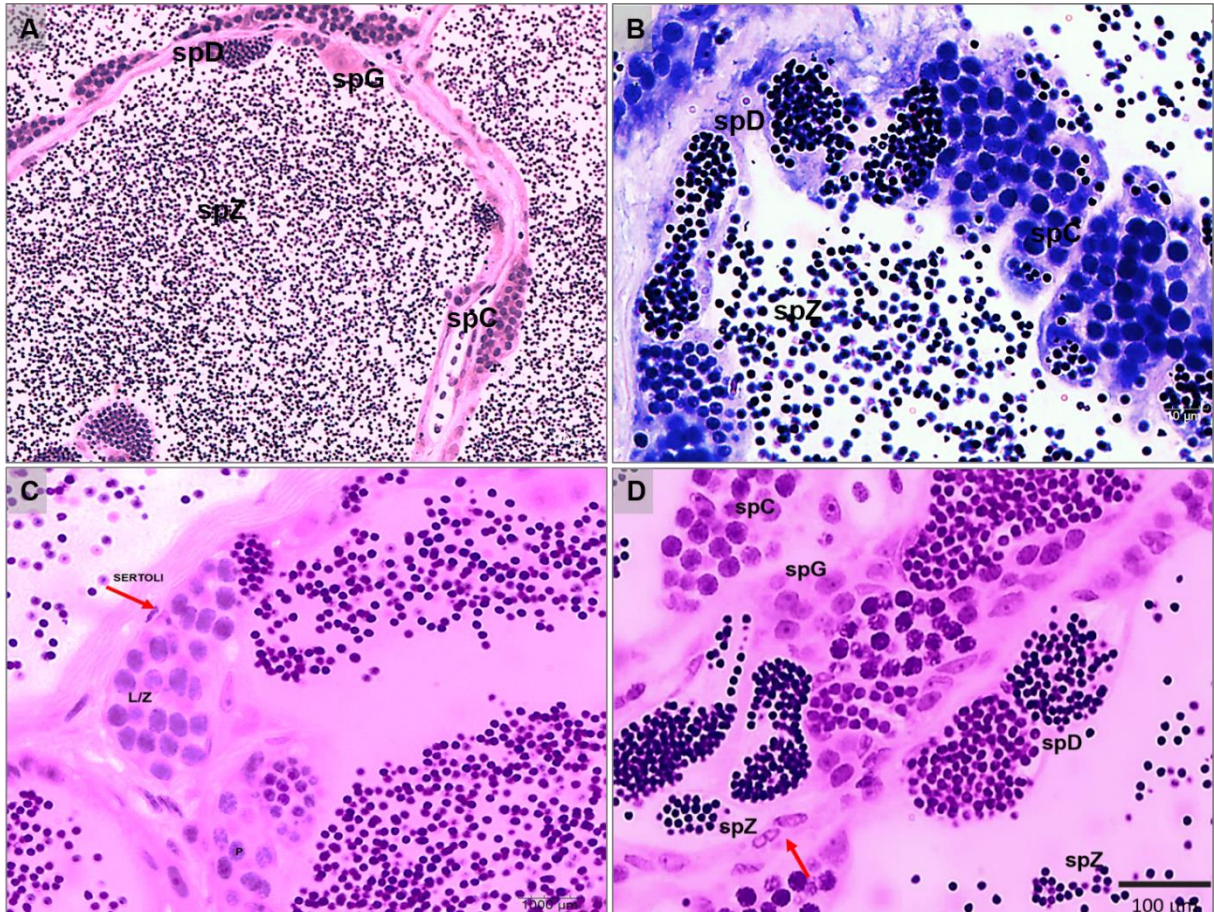


Fonte: Própria autora.

Espermatogônias foram observadas em toda a extensão do epitélio, por serem as maiores células da linhagem, e de fácil identificação (Figuras 17). Espermatócitos em fases diversas da meiose (paquíteno leptóteno, zigóteno, paquíteno), assim como espermátides e lúmen repleto de espermatozoides, com células de Sertoli associadas junto a parede dos cistos em formato achatado/cúbico (Figura 17-A,B,C,D), emitindo suas projeções citoplasmáticas, dando suporte, proteção e fagocitando corpos residuais provenientes do metabolismo das células germinativas.

Figura 17 – Características histológicas da morfologia testicular de *Brycon orbignyanus*. A- ; B-; C-; D-; **spG** - espermatogônia; **spC** - espermatócito; **spD** - espermátide; **spZ** – espermatozoide. Coloração: H.E (Hematoxilina/eosina).

Estrutura testicular de *Brycon orbignyanus*. **L**- Espermatócitos em leptóteno; **Z** - Espermatócitos em zigóteno; **P** - Espermatócito em paquíteno; **seta**- células de Sertoli.



Fonte: Próprio autor.

4.3 Estereologia

Como os animais estavam na fase de maturação final, poucos grupos celulares foram observados ao longo do epitélio e grande concentração de espermatozoides na luz dos túbulos seminíferos. No entanto a análise estatística não foi significativa para animais de dois, assim como para três anos, mas levando em consideração que houve significância para os demais parâmetros analisados, subte-se os pontos de contagem não foram suficientes, uma vez que a correlação de Pearson foi positiva para todos os parâmetros.

4.4 Análise Estatística

Não houve diferenças estatística ao analisar a proporção de espermatozoides no lúmen. A análise dos resultados mostrou ainda que há uma relação linear positiva entre todas as variáveis (Tabela 2) principalmente entre a massa testicular e a proporção de espermatozoide, com exceção apenas para a contagem de espermatozoides dos peixes com um ano de idade, que por serem imaturos não apresentaram espermatozoides na luz suficiente para a realização da análise estereológica, mas sendo positiva para todos os demais parâmetros.

Tabela 2 – Correlação de Pearson com os parâmetros morfométricos aferidos em *B. orbignyanus* em idades distintas. M.C - Massa corporal; M. T - Massa testicular; IGS – Asterisco - Animais mais jovens com características imaturas, sem presença de espermatozoides na luz.

C. Pearson	Mc e Mt	IGS e Mt	Mt e Spz
1 Ano	0,54	0,80	*
2 Anos	0,91	0,78	0,47
3 Anos	0,24	0,82	0,30

Nota: *Animais imaturos, sem presença significativa de espermatozoides no lúmen.

Fonte: Própria autora.

5 DISCUSSÃO

Até 2005, os trabalhos envolvendo fatores biométricos em virtude das taxas de crescimento eram voltados apenas para algumas espécies de interesse econômico, como o caso da tilápia (CARNEIRO; URIBITANI; ROVIERO, 2000). Estudos desta natureza para a espécie *Brycon orbignyanus* (piracanjuba), que também é uma espécie com interesse econômico, passaram a ser abordados por Gomiero (2005), no qual observou que as maiores taxas de crescimento ocorrem em uma faixa de peso anterior a 100g. Contudo observando em intervalos maiores, como na metodologia proposta no presente trabalho, esse crescimento se dá de maneira gradativa.

Corroborando com os valores que observados no presente trabalho, no qual os exemplares de *B. orbignyanus* apresentaram um bom crescimento, sendo mais acentuado nos peixes mais jovens, reduzindo essa porcentagem com o avanço da idade. Segundo Worthmann (1980), quando comprimento é plotado contra intervalos de tempos curtos, não há uma taxa constante de crescimento, mas sim uma taxa que é interrompida em intervalos regulares.

Berg e Butterfield (1976), descrevem que a maioria dos animais apresenta uma boa taxa de crescimento até chegarem a juvenis, a partir dessa fase é natural que haja uma desaceleração. Entretanto em peixes o crescimento está intimamente relacionado com as condições nutricionais e de qualidade da água.

Todos os dados morfométricos de *B. orbignyanus* apresentam uma relação positiva quando relacionados com o IGS, esses dados mostram que este índice além de ser usado como um bom sinalizador do período reprodutivo, quando associado aos parâmetros morfométricos, evidencia não só os picos durante o período reprodutivo, mas uma tendência de aumentar com a idade do animal, ou seja, os animais que estavam na mesma fase de desenvolvimento testicular apresentam diferenças estatísticas, pois os exemplares de 3 anos de idade, apresentaram a faixa de valores de IGS maior do que aqueles de 2 anos.

Considerando esse aspecto, quando os estudos avaliam os maiores valores de IGS e sua correlação com os meses do ano para estimar o período reprodutivo dos animais, corre-se o risco de subestimar este período, reduzindo o tempo de reprodução da espécie naquele ambiente ao longo do ano.

Entretanto, alguns autores associam o aumento do IGS à elevação da temperatura ocorrida nos últimos anos, podendo ser melhor observado durante período reprodutivo (QUEROL; QUEROL; GOMES, 2002). Outro fator relevante, é o fato dos animais sexualmente maduros na fase de maturação final, apresentarem diferenças estatísticas em relação aos espermatozoides no lúmen, ficando evidente também que mesmo o testículo tendendo em aumentar mais a sua massa, em comparação ao tamanho e massa corporal, a produção de espermatozoides não mantem a mesma proporção.

Lüpold *et al.* (2013) afirma que o tamanho do animal é o fator determinante na evolução do sêmen, dado que a produção depende do tamanho dos testículos, com mais sêmen na corrida pela fecundação, o macho otimiza o resultado. Contudo o autor afirma que em mamíferos de grande porte, não há uma boa relação entre tamanho e qualidade. Uma vez que estes tendem a produzir muito esperma, mas poucos espermatozoides.

Observamos que houve diferença estatística dentro da fase entre os animais de 2 e 3 anos de idade. Conforme citado por Menezes *et al.* (2000), em machos, as modificações macroscópicas de um estágio para o outro são menos acentuadas, podendo, inclusive, ocorrer sobreposição de dados, como ocorreu com animais de dois e três anos de idade em relação a fase testicular.

Outro fato relevante foi a presença de espículas na nadadeira anal em animais com 1 ano, uma vez que a análise microscópica revelou características de animais iniciando o período reprodutivo ou imaturos. Entretanto há uma discordância entre autores em relação as fases do desenvolvimento testicular. Brown-Peterson *et al.* (2011) enfatiza que nessa fase as proliferações das células germinativas independem da ação de hormônios gonadotrópicos, assim esta não considera como parte do ciclo. Contudo Batlouni *et al.* (2006), a considera como maturação inicial, devido as intensas proliferações espermatogoniais.

Em relação a presença das espículas, Azevedo *et al.* (2000) acredita que eles estimulem possivelmente fêmea a desova. Esse caráter é amplamente utilizado diferenciar machos de fêmeas em *Astyanax altiparanae*, por ser um caráter sexual secundário comumente apresentado por algumas espécies de Characiformes (MALABARBA, 1998; PORTO-FORESTI *et al.*, 2005; NASCIMENTO *et al.*, 2017).

Observando histologicamente o epitélio germinativo em *B. orbignyanus*, podemos considera-lo como “tubular anastomosado”, no qual os compartimentos germinativos são interconectados, apresentando ramificações, como observado por Grier (1993), o autor afirma ainda que os testículos com essa característica, geralmente formam cordões intratubulares, com descontinuidades que formam o lúmen e as projeções das células de Sertoli delimitam os espermatocistos, fazendo com que ocorra a sincronia da espermatogênese. Esta característica é comum para grupos mais basais, a exemplo de *Megalops atlanticus* (GRIER, 2004) e *Salminus brasiliensis* (VERÍSIMO-SILVEIRA, *et al.*, 2006).

A espermatogênese em *B. orbignyanus* é classificada como cística, com testículos do tipo espermatogonial irrestrito, no qual ao final da espermiogênese as projeções citoplásticas e a membrana das células de Sertoli, que envolvem as espermatídes se rompem desfazendo assim os cistos, e os espermatozoides já formados são liberados no lúmen, o desenvolvimento das células germinativas ocorre de forma sincrônica (ZAIDEN, 1997; ALTHAMMER, 1999; AIRES, 2000; GRIER E URIBE-ARAZÁBAL, 2009; SCHULZ *et al.*, 2010; CHAGAS, *et al.*, 2016; ZARDO, 2018).

6 CONCLUSÃO

A análise comparativa de exemplares de *Brycon orbignyianus* com idades de 1, 2 e 3 anos, permitiu concluir que:

- a) A proporção de crescimento da espécie é maior nos 2 primeiros anos de vida;
- b) O Índice Gonadosomático, apresenta uma faixa de variação, dentro da mesma fase de reprodutiva;
- c) Animais com dois e três anos de idade, apesar de estarem na mesma fase de Maturação Final, do desenvolvimento testicular, apresentaram diferenças estatísticas nos valores do IGS, quanto maior a idade maior os valores deste índice;
- d) Portanto, este índice tende a acompanhar não só o ganho de massa corporal e testicular, no decorrer das fases reprodutivas, mas também o crescimento (cm) e idade do animal;
- e) A concentração de espermatozoides na luz dos túbulos anastomosados não variou com o aumento do IGS, entretanto não foi avaliado se houve um aumento na proporção destes túbulos na estrutura testicular.

REFERÊNCIAS

- AFZELIUS, B. A. Fine structure of the garfish spermatozoon. **Journal of Ultrastructure Research**, Maryland Heights, v. 64, n. 3, p. 309-14, 1978.
- AGOSTINHO, A. A.; ZALEWSKI, M. **A planície alagável do alto rio Paraná: importância e preservação** (Upper Paraná River floodplain: Importance and Preservation). Maringá: Eduem, 1996. 100 p.
- AIRES, E. D; STEFANINI, M. A; ORSI, A. M. Características ultra-estruturais e diferenciativas das espermátides de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) durante a espermiogênese. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 3, p.183-188, 2000.
- ALEXANDRINO, A. C.; PHAN, M. T.; PINHEIRO, E. F. G.. Caracterização macroscópica e microscópica das gônadas do curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), durante o ciclo reprodutivo. **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 9, p.159-175.1985.
- ALTHAMMER, B. B. **Avaliações ultraestruturais das células do interstício e císticas do testículo da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849)(Pisces, Characidae), durante o ciclo sexual**. 1999. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 1999.
- ANDRADE, D. R; TONINI, W. C. T; BURKERT, D; GODINHO, H. P; VIDAL JR, M. V. Maturação testicular na manjuba *Curimatella lepidura* Eigenmann e Eigemnmann, 1889 (Pisces, Curimatidae) da represa de Três Marias, Rio São Francisco, Brasil. **Revs. Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 9-16, 2009.
- ASHIKAGA, F. Y.; ORSI, M. L.; OLIVEIRA, C.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F. The endangered species *Brycon orbignyanus*: genetic analysis and definition of priority areas for conservation. **Environmental Biology of Fishes**, Dordrecht, v. 98, p. 1845-1855, 2015.
- AZEVEDO, C.O; BARBIERI, M.C; BARBIERI, G. Ciclo reprodutivo de *Parodon Tortuosus* (Eigenmann & Norris, 1900) do rio passa cinco Ipeúma-SP. II. Estádio de maturação do ovário. Época de reprodução. **Rev. Bra. Sao Carlos**, v. 48, p. 571-575, 1988.
- BARBIERI, G; SANTOS, E. P. Análise comparativa do crescimento e de aspecto reprodutivos da piava *Leporinus friderici* (Bloch, 1974) (Osteichthyes, Anostomidae) da represa do lobo e do rio Moji Guaçu, SP. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 40, p. 693-697, 1988.
- BARBIERI, G; SANTOS, E. P. Análise comparativa do crescimento e de aspecto reprodutivos da piava *Leporinus friderici* (Bloch, 1974) (Osteichthyes, Anostomidae) da represa do lobo e do rio Moji Guaçu, SP. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 40, p. 693-697, 1988.

BATLOUNI, S. R.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M. I. The reproductive cycle of male catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium: An approach addressed to aquaculture. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 96, n. 1-2, p. 116-132, 2006.

BAUDRON, A. R.; AGULHA, C. L.; RIJNSDORP, A. D.; MARSHALL, T. C. Warming temperatures and smaller body sizes: synchronous changes in growth of North Sea fishes. **Global Change Biology**, Chichester, v. 20, p. 1023-1031, 2014.

BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A. G.; DEBONA, T.; FRANA, V. A. **Peixes do baixo rio Iguaçu**. Maringá: Eduem, 2012.

BERG, R. T.; BUTTERFIELD, R. M. **New concepts of cattle growth**. Sydney: Sydney University, p.240, 1976.

BILLARD R. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. **Reproduction, Nutrition, Development**, Les Ulis, v. 26, n. 4, p. 877-920, 1986.

BLÁZQUEZ, M; SOMOZA, G. M. Fish with thermolabile sex determination (TSD) as model to study brain sex differentiation. **General and Comparative Endocrinology**, Maryland Heights, v. 166, p. 470-477, 2010.

BONE, Q.; MARSHALL, N. B.; BLAXTER, J. H. S. **Biology of fishes**. 2 ed. London: Chapman & Hall, 1995.

BOSSEMEYER, I. K.; HALL, G. B. Determination of the time of spawning and maturation of the jundiá, *rhambdia sapo*, based on the gonado-somatic index (GSI) and the morphocytologic study of the gonads. **Ciência e Natura**, Maryland Heights, v. 2, n. 2, p. 133-151, 1980.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Lista nacional das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção**. Brasília, DF, 2018. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/lista-de-especies/6219-especie-6219>. Acesso em: 14 jan, 2018.

BREDER, W. P.; ROSEN, D. E. **Modes of reproduction in fishes**. New York: Natural History Press, 1966.

BRITO, M. F. G.; LAZZAROTTO, H.; CARAMASCHI, E. P. Life-history features of a rapids-dwelling loricariid *catfish* from Atlantic forest streams, Brazil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 1-7, 2016. DOI 10.1590/1676-0611-BN-2015-0068.

BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D. M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B. J.; LOWERRE-BARBIERI, S. K. A Standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, Chichester, v. 3, p. 53-70, 2011.

CARDOSO, D. M. Relação gênito-hipofisária e reprodução nos peixes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 5, p. 133-136, 1934.

CARNEIRO, P. C. F.; URIBITANI, E. C.; ROVIERO, D. P. Growth and metabolic parameters of red tilapia reared in floating net cages in a small reservoir. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, p. 439-444, 2000.

CASTAGNOLLI, N. Espécies nativas próprias para a piscicultura. In: SÁ, M. F. P. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: Funep, 1992. p. 59-69,

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 *Devorio aequipinnatus* (Teleostei, Cyprinidae): um potencial modelo biológico em experimentação animal. **Boletim do Instituto de Pesca (Impresso)**, [s. l.], v. 42, p. 765-779, 2016.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R.; HIBITT, O.; PARRINGTON, J. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, Dordrecht, v. 12, p. 33-58, 2002.

DAUFRESNE, M.; LENGFELLNER, K.; SOMMER, U. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, New York, v. 106, p. 12788-12793, 2009.

DE ROOIJ, D. G.; RUSSELL, L. D. All You Wanted to Know About Spermatogonia but Were Afraid to Ask. **Journal of andrology**, Schaumburg, v. 21, n. 6, p. 776-798, 2000.

FERNANDEZ, D. R. Diel variation in the ascent of fishes up na experimental fish ladder at Itaipu Reservoir: fish size, reproductive stage and taxonomic group influences. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 215-222, 2007.

FERREIRA, R. M. A; GODINHO. H. P. Reproductive biology of the white piau, *Schizodon knerii* (Steindachner, 1875) (Anostomidae) from a reservoir in southeast Brazil. **Eur. Arch. Biol.**, Bruxelles, v. 10, p. 331-344, 1990.

FISHBASE. **Family Bryconidae**. [S. l.], 2019. Disponível em: <http://www.fishbase.se/Summary/FamilySummary.php?ID=687>. Acesso em: 05 jan. 2019.

FLORES, A. Accuracy of gonadosomatic index in maturity classification and estimation of maturity ogive. **Fisheries Research**, Amsterdam, v. 210, p. 50-62, 2019.

GODINHO, A. L; GODINHO, H. P. Breve visão do São Francisco. In: GODINHO, A. L; GODINHO, H. P. (org.) **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. p. 15-24.

GODOY, M. P. **Peixes do Brasil**: Subordem Characoidei- bacia do Rio Mogi Guassu. Piracicaba: Franciscana, 1975. v. 4.

GOMIERO, J. G. **Curvas de crescimento morfométrico e alométrico de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)**. 2005. 45 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

GRIER, H. J. Cellular Organization of the Testis and Spermatogenesis in Fishes. **Amer. Zool.**, [s. l.], v. 21, p. 345-357, 1981.

GRIER, H. J. The germinal epithelium: its dual role in establishing male reproductive classes and understanding the basis for indeterminate egg production in female fishes. In: ANNUAL GULF AND CARIBBEAN FISHERIES INSTITUTE, 53., 2000, Biloxi. **Proceedings** [...] Fort Pierce: Alabama Sea Grant Consortium, 2000. p. 537-552.

GRIER, H. J. The germinal epithelium: Its dual role in establishing male reproductive classe and uderstanding the basis for indeterminate egg production in female fishes. **Florida Marine Research Intitute**, Petersburg, v. 53, p. 537-552, 2002.

GRIER, H. J.; ARRANZÁBEL, M. C. The testis and spermiogenesis in teleost. In: JAMIESON, B. G. M. (ed). **Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnatus and Neoteleostomi)**. Phylogeny-reproductive Sistem Viviparity-spermatozoa. Enfield: Science Publishers, 2009.

GRIER, H. J.; THAYLOR, R. G. Testicular maturation and regression in the common snook. **Jornal of Fish Biology**, Chichester, v. 53. p. 521-542, 1998.

GRIER, H.J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cells barrier. In: RUSSELL, I. D.; GRISWORLD, M. D. **The Sertoli cell**. Clearwater: Cache River Press, 1993. p. 704-739.,

GRIER, H.J.; LINTON, J.R.; LEATHERLAND, J.F.; e DE VLAMING, V.L. Structural Evidence for Two Different Testicular Types in Teleost Fishes. **The American Journal of Anatomy**, Hoboken, v. 159, p. 31-345, 1980.

GRIER, J. H.; URIBE ARANZÁBAL, M. C. The Testis and Spermatogenesis in Teleosts. In: JAMIESON, B. G. M. (ed.) **Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Bony Fishes)**. Enfield: Science Publishers, 2009.

GROVE, C.; JERRAM D. A. jPor: An ImageJ macro to quantify total optical porosity from blue-stained thin sections. **Computers & Geosciences**, Kidlington, v. 37, n. 11, p. 1850-1859, 2011.

HILSDORF, A.W. S.; MOREIRA, R. G. **Piracema**: por que os peixes migram? Scientific American Brasil, 2008.

HONJI, R. M; TOLUSSI, C. E; PELE, D. C; POLAZ, C. N. M; HILSDORF, A. W. S; MOREIRA, R. G. Biodiversidade e conservação da ictiofauna ameaçada de extinção da bacia do rio Paraíba do Sul. **Revista de Biologia**, Lisboa, v. 17, p. 18-30, 2017.

HOWES, G. Review of the Genus *Brycon* (Teleostei: Characidae). **Bulletin of the Bristish Museum (Natural History). Zool.**, [s. n.], v. 43, p. 1-47, 1982. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/2260663#page/8/mode/1up>. Acesso em: 14 ago. 2018.

INSTITUTO CHICO MENDES DE BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO (ICMBIO) [online]. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira?id=6219:especie-6219>, Acesso em 14 de agosto 2018.

ISAAC-NAHUM, V. J; VAZZOLER, A. E. Biologia reprodutiva de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). Relação gonadossomática, comprimento, e peso dos ovários como indicadores do período de desova. **Bolm. Instit. Ocenograf.**, São Paulo, v. 35, p. 123-134, 1987.

JAMES, M. F. Histology of gonadal changes in the bluegill, *Lepomis macrochirus* Rafinesque, and the largemouth bass *Huro salmoides* (Lacepede). **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 79, p. 63-88, 1946.

JOBLING, M. **Environmental Biology of fishes**. London: Chapman & Hall, 1995.

KOULISH, S.; KRAMER, C. R.; GRIER, H. J. Organization of the male gonad in a protogynous fish, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: Labridae). **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 254, p. 292-311, 2002.

LAHNSTEINER, F.; PATZNER, R. A.; WEISSMANN, T. Testicular main ducts and spermatic ducts in some cyprinid fishes. I. Morphology, fine structure and histochemistry. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 44. p. 937-51, 1994.

LAHNSTEINER, F., RICHTARSKI, U. e PATZNER, R. A. Functions of the testicular gland in two blennioid fishes, *Salarias (= Blennius) pavo* and *Lipophrys (= Blennius) dalmatinus* (Blenniidae, Teleostei) as revealed by electron microscopy and enzyme histochemistry. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 37, p. 85–97, 1990.

LIMA, F. C. A. A revision of the cisandean species of the genus *Brycon* Muller & Troschel (Characiformes: Characidae). **Zootaxa**, Auckland, v. 4222, n. 1, p. 1-189, 2017.

LIMA, F.C.T; MOREIRA, C.R. Three new species of *Hyphessobrycon* (Characiformes: Characidae) from the upper rio Araguaia basin in Brazil. **Neotropical Ichthyology**, São Paulo, v. 1, p. 21-33, 2003.

LOPERA-BARRERO, N. M; RIBEIRO, R. P; SIROL, R. N; POVH, J. A; GOMES, P. C; VARGAS, L; MANGOLIN, C. A. Variabilidade genética de lotes de *Brycon orbignyanus* utilizados em programas de repovoamento: Manejo e conservação. **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v. 13, p. 107-118, 2008.

LOWE-MCCONNELL, R. H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. São Paulo: Edusp, 1999. p. 534.

LÜPOLD, S. Ejaculate quality and constraints in relation to sperm competition levels among eutherian mammals. **Evolution**, Rennes Cedex, v. 67, p. 3052–3060, 2013.

MALABARBA, L. R. Monophyly of Cheirodontinae, characters and major clades. In: MALABARBA, L. R., R. E. REIS, R. P. VARI, Z. M. **Phylogeny and classification of neotropical fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. p.193-233.

MALABARBA, L. R. Subfamília Cheirodontinae (Characins, tetras). Em: REIS, R. E. **Lista de verificação dos peixes de água doce da América do Sul e Central**. Porto Alegre: Edipucrs, 2003. p. 215-221.

MAZZONI, T. S. **Formação do epitélio germinativo durante a morfogênese e diferenciação gonadal em *Cyprinus carpio* (Teleostei: Cypriniformes)**: análise estrutural e ultraestrutural das células germinativas e somáticas. 2019. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 2019.

MENEZES, M. S.; TAKEUTI, D. F.; ARANHA, J. M. R.; VERANI, J. R. Desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas de *Pseudotothyris obtusa* (Ribeiro, 1911) (Loricariidae, Hypoptopomatinae). **Acta. Biológica**, [s. l.], v. 29, n. 1, 2, 3, 4, p. 89-100, 2000.

NAGAHAMA, Y. **A morfologia funcional das gonadotas teleósticas. Fisiologia dos peixes**. San Diego: Academic, 1983. p. 223-275.

NASCIMENTO, N. F; PEREIRA-SANTOS, M; P, L. HENRIQUE; MANZINI B; FUJIMOTO, T; SENHORINI, J. AUGUSTO; YASUI, G. S; NAKAGHI, L. S. O. Growth, fatty acid composition, and reproductive parameters of diploid and triploid yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 471, p. 163–171, 2017.

NAVARRO, R. D; SILVA, R. F; RIBEIRO FILHO, O. PINTO; CALADO, L. L; REZENDE, F. P; SANTOS, C. S. S; SANTOS, L. C. Comparação morfométrica e índices somáticos de machos e fêmeas do lambari prata (*Astyanax scabripinnis* Jerenyns, 1842) em diferente sistema de cultivo. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 24, p. 165-176, 2006.

NELSON, J. S. **Fishes of the world**. 4. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006.

NIKOLSKY, G. V. **The ecology of fishes**. San Diego: Academic Press, 1963. 352 p.

ORR, R. T. **Biologia dos vertebrados**. 5. ed. São Paulo: Roca, 1986.

PAIVA, M. P. **Grandes Represas do Brasil**. Brasília: Ed. Terra, 1982. 292 p.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: Bernardo Baldisserotto, GOMES Levy de Carvalho (org.) **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. v. 2. p. 101-116.

QUEROL, M. V. M; QUEROL, E; GOMES, N. N. A. Fator de condição gonadal, Índice hepatossomático e Recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do Brasil. Iheringia, **Sér. Zool.**, Porto Alegre, v.92, p. 79-84, 2002.

REY-VÁZQUEZ G. DACUÑA RH, MEIJIDE FJ, GUERRERO G. Spermatogenesis and changes in testicular structure during the reproductive cycle in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). **Acta Zool.**, [s. l.], v. 93, p. 338-350, 2012.

ROSA, R. S; LIMA, F. C. T. Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. [S. l.], 2005. p. 47-56,

SATO, Y.; SAMPAIO, E. V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R. Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da Bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 23, n.1, p. 267-273, 2006.

SCHULZ, R. W., FRANÇA, L. R., LAREYRE, J.-J., LE GAC, F., CHIARINI-GARCIA, H., NOBREGA, R. H.; MIURA, T. Spermatogenesis in fish. **General and Comparative Endocrinology**, Maryland Heights, v. 165, p. 390-411, 2010.

SILVA, M. **Morfologia ultra-estrutural do testículo, cinética da espermatogênese e barreira hematotesticular da tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus* (Peixe, Ciclídeo)**. Minas Gerais. 1987. 164 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1987.

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**, São Paulo, v. 11, p. 587-596, 2013.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; SANTOS-SILVA, A. P.; BASHIYO-SILVA, C.; RODRIGUES, M. S.; VICENTINI, C. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Testicular Structure and Seminal Pathway in the Yellowtail Tetra *Astyanax altiparanae* (Characiforms: Characidae). **Journal of Veterinary Medicine: Anatomy, histologia, embryologia**, New York, v. 46, p. 342-346, 2017.

SOUTO, C. N. Visão geral sobre reprodução de peixes teleósteos: da anatomia à sinalização molecular. **Pubvet**, [s. l.], v. 11, p. 1074-1187, 2017.

SUZUKI, H. I; PELICICE, F. M; LUIZ, E. A; LATINI, J. D; AGOSTINHO, A. A. Estratégias reprodutivas da assembleia de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná. **Pesquisas Ecológicas de Longa Duração**, Maringá, v. 15, n. 275, p. 1-9 2004.

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

VAZZOLER, A.E.A.M. e MENEZES, N.A. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysi). **Rev. Brasil. Biol.**, São Carlos, v. 52, p. 627-640, 1992.

VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. *et al.* Ultraestrutura de espermiogênese e espermatozóides em *Salminus* e *Brycon*, dois gêneros primitivos em Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes). **Acta Zoologica**, [s. l.], v. 87, n. 4, p. 305-313, 2006.

WELTZIEN, F. A.; TARANGER, G. L.; KARLSEN, O.; NORBERG, B. Spermatogenesis and related plasma androgen levels in *Atlantic halibut* (L.). **Comp. Biochem. Physiol. a Mol. Integr. Physiol**, Philadelphia, v. 132, n. 3, p. 567-575, 2002.

WORTHMANN, H. O. W. Estágios iniciais de crescimento da pescada (*Plagioscion monti* Soares). **Acta Amazonica**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 157-164, 1980.

ZAIDEN, F. S. **Estrutura testicular da piracanjuba *Brycon orbignianus* (Valenciennes, 1849)(PISCES: CHARACIDAE), nos vários estádios do ciclo sexual**. 1997. Dissertação (Mestrado) - CAUNESP-UNESP, Jaboticabal, 1997.

ZANIBONI FILHO, E.; SCHULZ, U. H. Uruguay River. In: CAROLSFELD, J. *et al.* **Migratory fishes of south america. biology, fisheries and conservation status**. Ottawa: World Fisheries Trust. p.161-194, 2003.

ZARDO, E. L. **Diferenciação sexual, estrutura populacional e ciclo reprodutivo de piracanjubas (*Brycon orbignyanus*) sob condições de cultivo**. [S. l.], 2018.

ZOHAR, Y.; MUÑOZ-CUETO, J. A.; ELIZUR, A.; KAH, O. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, Maryland Heights, v. 165, p. 438-455, 2010.