

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
UNESP – BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA

**UMA NOVA ABORDAGEM DO CICLO REPRODUTIVO DOS MACHOS E
FÊMEAS, E DA ORIGEM E DESENVOLVIMENTO DOS OÓCITOS DOS
OSTARIOPHYSI E PERCIFORMES NEOTROPICAIS APLICADA A
REPRESENTANTES DA SÉRIE OTOPHYSI, *Gymnotus* sp.
(GYMNOTIDAE), *Hoplias malabaricus* (ERYTHRINIDAE), *Sorubim lima*
(PIMELODIDAE) E *Tanichthys albonubes* (CYPRINIDAE), E DOS
PERCIFORMES, *Cichla temensis* (CICHLIDAE).**

Renata Ishiba

Orientadora: Irani Quagio-Grassiotto

Botucatu – SP

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

UNESP – BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA

**UMA NOVA ABORDAGEM DO CICLO REPRODUTIVO DOS MACHOS E
FÊMEAS, E DA ORIGEM E DESENVOLVIMENTO DOS OÓCITOS DOS
OSTARIOPHYSI E PERCIFORMES NEOTROPICAIS APLICADA A
REPRESENTANTES DA SÉRIE OTOPHYSI, *Gymnotus* sp.
(GYMNOTIDAE), *Hoplias malabaricus* (ERYTHRINIDAE), *Sorubim lima*
(PIMELODIDAE) E *Tanichthys albonubes* (CYPRINIDAE), E DOS
PERCIFORMES, *Cichla temensis* (CICHLIDAE).**

Renata Ishiba

Orientadora: Irani Quagio-Grassiotto

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como
parte dos requisitos para a obtenção do
Título de Bacharel em Ciências Biológicas.**

Botucatu – SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Ishiba, Renata.

Uma Nova Abordagem do Ciclo Reprodutivo dos Machos e Fêmeas, e da Origem e Desenvolvimento dos Oócitos dos Ostariophysi e Perciformes Neotropicais Aplicada a Representantes da Série Otophysi, *Gymnotus* sp. (Gymnotidae), *Hoplias Malabaricus* (Erythrinidae), *Sorubim Lima* (Pimelodidae) e *Tanichthys Albonubes* (Cyprinidae), e dos Perciformes, *Cichla Temensis* (Cichlidae) / Renata Ishiba. - Botucatu, 2011

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011

Orientador: Irani Quagio-Grassiotto

Capes: 20303025

1. Citologia. 2. Teleósteos. 3. Reprodução.

Palavras-chave: Epitélio Germinativo; Foliculogênese; Estágios das Células Germinativas; Ciclo Reprodutivo; Terminologia das Fases Reprodutivas

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Sônia Soares de Souza Ishiba e Roberto Ishiba, pelo amor e apoio, sem o qual nada disso seria possível.

Ao meu irmão Roberto Ishiba Júnior, pelo nosso reencontro em conversas e viagens.

À minha avó Rita Alves Dias, pelo amor e importância que representa em minha vida.

À tia Natália Dias Campos, pela generosidade e dedicação em cuidar das pessoas.

Ao meu avô José Ishiba, em lembrança.

A Deus, por tudo, o que eu não saberia agradecer com palavras.

AGRADECIMENTOS

- À professora Irani Quagio-Grassiotto pela orientação e atenciosidade ao longo desses cinco anos de convivência e aprendizagem. Muito Obrigada!
- Ao professor Sergio Ricardo Batlouni pela supervisão do trabalho.
- Ao técnico e amigo Antônio Vicente Salvador, pelo apoio, paciência e companheirismo.
- À Dona Têra, pelo carinho e atenciosidade.
- À secretária do Departamento de Morfologia da Unesp-Botucatu, Luciana Cristina Montes, por sempre estar disposta a ajudar com eficiência.
- Aos colegas de laboratório: Clarianna, Daniel, Júlio, Lucélia, Mariana, Rafaela e Rinaldo, pelos momentos divertidos.
- Em especial: à Clarianna pelo apoio e descontração proporcionados nesses últimos meses; ao Daniel, por sua generosidade pessoal e no trabalho; e ao Rinaldo, pelo carinho e paciência em me ouvir nos momentos conturbados. Muito Obrigada, vou sentir muitas saudades!
- À grande amiga Larissa Shiozawa, pela confiança e carinho traçados nessa jornada desde que nos conhecemos na matrícula da faculdade até os dias de hoje e espero que por muito tempo ainda.
- Ao amigo Edson Ryuiti Katayama, pelo apoio nos primeiros anos de faculdade, longe de casa.
- À Ayesha, Lelo, Máira, Patrícia, Rafael e Ulla pela amizade e conselhos úteis nessa fase de transição.
- Ao vô Alcebiades Soares de Souza, báchan Mariko Uemura, tio Souza e tio Orlando.
- Aos primos Cilmerly Suemi Kurokawa e Gilberto Uemura pela atenção e cuidados no começo do ano quando precisei fazer uma cirurgia.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro nos projetos desenvolvidos no Laboratório de Biologia da Reprodução de Peixes Neotropicais.
- E a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma.

Muito Obrigada!!!

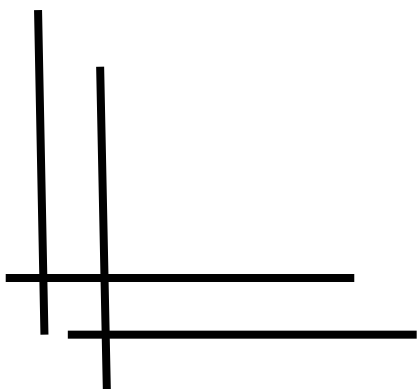
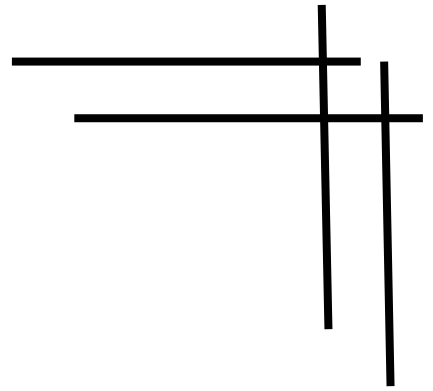
*“De tudo ficaram três coisas...
A certeza de que estamos começando...
A certeza de que é preciso continuar...
A certeza de que podemos ser interrompidos
antes de terminar...
Façamos da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro!”*

Fernando Sabino

ÍNDICE

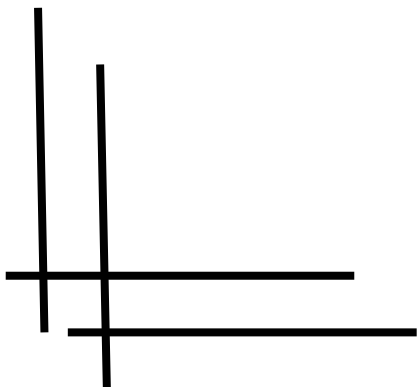
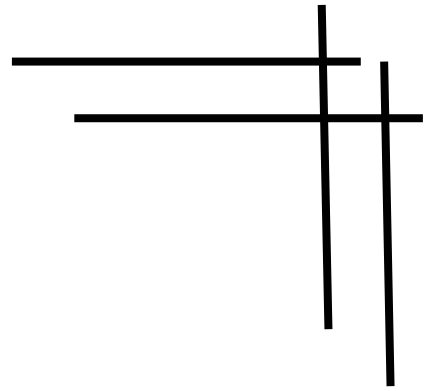
RESUMO.....	01
INTRODUÇÃO.....	03
1 A Estrutura Gonadal	
1.1. Testículos.....	04
1.2. Ovários.....	05
2. O Epitélio Germinativo.....	06
2.1. Espermatogênese.....	06
2.2. Oogênese.....	08
3. Terminologias para a Classificação das Classes/Fases Reprodutivas	
3.1. Antecedentes – Multiplicidade de Terminologias Empregadas.....	10
3.2. Propostas Recentes de Terminologias	
3.2.1. As Classes/Fases Reprodutivas dos Machos.....	11
3.2.2. As Classes/Fases Reprodutivas das Fêmeas.....	13
3.2.3. Proposta de Terminologia Simplificada para Classificação Reprodutiva de Machos e Fêmeas.....	14
4. Os Teleostei – Grupos Basais e Derivados.....	15
5. O Modelo Biológico.....	16
I. <i>Cichla temensis</i> (Perciformes).....	16
II. <i>Gymnotus</i> sp. (Gymnotiformes).....	16
III. <i>Hoplias malabaricus</i> (Characiformes).....	17
IV. <i>Sorubim lima</i> (Siluriformes).....	17
V. <i>Tanichthys albonubes</i> (Cypriniformes).....	17
JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	18
MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
1. Os Espécimes Analisados.....	22
2. Obtenção dos Dados Biométricos.....	22
3. Preparação do material para a Microscopia de Luz.....	23
4. Forma de Análise dos Resultados.....	23
RESULTADOS.....	24
1. MACHOS	
1.1. Análise Macroscópica.....	25
1.2. Análise Microscópica.....	26
1.2.1. Células Somáticas e Desenvolvimento das Células Germinativas Masculinas.....	27
1.2.2. Caracterização Morfológica das Fases Reprodutivas.....	28

I. Grupo Derivado.....	29
II. Grupos Basais (Série Othophysi).....	30
1.2.3. Proliferação das Células Germinativas e Somáticas.....	34
1.2.4. Terminologias.....	34
1.3. Análise Biométrica.....	34
1.4. Correlação entre a Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica	36
2. FÊMEAS	
2.1. Análise Macroscópica.....	38
2.2. Análise Microscópica.....	39
2.2.1. Foliculogênese.....	40
2.2.2. Desenvolvimento Oocitário.....	41
2.2.3. Caracterização Morfológica das Fases Reprodutivas.....	45
I. Grupo Derivado.....	45
II. Grupos Basais (Série Othophysi).....	47
2.2.4. Proliferação das Células Germinativas e Somáticas.....	49
2.2.5. Terminologias.....	50
2.3. Análise Biométrica.....	50
2.4. Correlação entre a Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica.....	52
DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA.....	54
DISCUSSÃO.....	111
1. Estrutura Gonadal	
1.1. Machos.....	112
1.2. Fêmeas.....	112
2. O Epitélio Germinativo	
2.1. Machos	
2.1.1. Desenvolvimento das Células Germinativas Masculinas.....	113
2.2. Fêmeas	
2.2.1. Foliculogênese.....	114
2.2.2. Desenvolvimento Oocitário.....	115
3. Terminologias.....	118
4. Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica.....	118
5. Proliferação das Células Germinativas.....	119
CONCLUSÕES.....	121
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	122



Resumo

Nos peixes, durante a vida reprodutiva o desenvolvimento gonadal é cíclico e anual. As alterações estruturais das gônadas de machos e fêmeas provêm parâmetros úteis para a sua classificação macroscópica e microscópica. Porém, o desenvolvimento das células germinativas, nem sempre é consoante com os diferentes tipos de classificação e, machos e fêmeas nem sempre parecem concatenados. Neste estudo, aplicando-se propostas recentes, utilizadas primariamente para peixes derivados, notadamente os Perciformes marinhos, e tomando como modelo experimental representantes da série Otophysi, *Hoplias malabaricus* (Characiformes), *Tanichthys albonubes* (Cypriniformes), *Sorubim lima* (Siluriformes) e *Gymnotus* sp. (Gymnotiformes), e dos Perciformes Neotropicais, *Cichla temensis*, foram descritos, comparativamente, os eventos iniciais da oogênese e da espermatogênese, assim como o desenvolvimento oocitário a fim de traçar um paralelo entre grupos basais e derivados. A partir dos resultados, verificou-se que a maioria dos eventos morfológicos durante o desenvolvimento oocitário é similar entre grupos basais e derivados. Os Perciformes de água doce divergem dos grupos basais por duas características: a presença de inclusões lipídicas, que surgem no citoplasma perinuclear após o início da formação dos alvéolos corticais e deposição de vitelo e por uma tênue proteólise do vitelo durante a maturação final. A foliculogênese e espermatogênese não apresentam divergências e parecem ser processos conservados entre os Teleostei. Durante a fase de Regeneração, os eventos iniciais desses processos em fêmeas e machos, respectivamente, são responsáveis por altos índices de proliferação das células germinativas, quando comparado às demais fases. Além disso, analisou-se comparativamente o ciclo reprodutivo por meio das classificações tradicionais e das novas propostas de classificação microscópica das gônadas de machos e fêmeas. A determinação das fases reprodutivas, como o esperado, apresenta melhor acurácia sob a análise histológica. Dados biométricos, como o Índice Gonadosomático, podem ser utilizados como recurso auxiliar, dependendo dos objetivos e, de maneira geral, representam corretamente o período reprodutivo. Adicionalmente, foram correlacionadas as classificações dos estádios/classes reprodutivas à proposta de Brown Peterson *et al.* (2011) de padronização da nomenclatura das fases reprodutivas em machos e fêmeas, e verificou-se que a nova proposta pode ser aplicada com as devidas adaptações a diversas espécies, com diferentes estratégias reprodutivas, incluindo peixes neotropicais de grupos basais e Perciformes de água doce.



Introdução

A caracterização das fases de desenvolvimento gonadal ao longo dos processos de espermatogênese e oogênese constitui uma ferramenta importante no estudo do ciclo reprodutivo das espécies.

A determinação do período reprodutivo pode ser analisada macroscopicamente através da observação de alterações de forma, tamanho, cor e textura das gônadas e através de parâmetros biométricos como o Índice Gonadosomático. Nos estudos sobre a biologia reprodutiva dos peixes neotropicais, a classificação macroscópica do desenvolvimento gonadal tradicionalmente utilizada, com algumas adaptações ou não, é a proposta por Vazzoler (1996). Nela, de modo geral as gônadas dos animais aptos à reprodução (sexualmente maduros) são classificadas como em repouso, em maturação, maduras e esgotadas ou semi-esgotadas dependendo do tipo de desova da espécie considerada. Ainda de acordo com Vazzoler (1996), há uma estreita relação entre os estádios de desenvolvimento gonadal e o aumento do peso da gônada. Dessa forma, o cálculo do Índice Gonadosomático, que expressa a porcentagem da gônada em relação ao peso total, é um indicativo do estado funcional da gônada ao longo do período reprodutivo. A verificação histológica tem mostrado, no entanto, que o desenvolvimento das células germinativas *in situ*, nem sempre é consoante com a classificação macroscópica e biométrica da própria gônada e, além disso, que machos e fêmeas nem sempre parecem concatenados.

A dissonância entre a classificação macroscópica e biométrica e a análise histológica das gônadas chama a atenção e a resolução desta questão sempre recorrente nos estudos da biologia reprodutiva dos peixes passa necessariamente pela compreensão da dinâmica do epitélio germinativo nos machos e nas fêmeas dos peixes.

1. A Estrutura Gonadal

1.1. Testículos

A organização estrutural básica dos testículos é comum a todos os peixes e aos demais vertebrados (Schulz *et al.*, 2010). Este órgão exerce as funções de produção de gametas (gametogênica), sendo constituído por dois compartimentos: o compartimento intersticial e o compartimento germinativo (Grier, 2002).

O compartimento germinativo das gônadas masculinas de peixes teleósteos, de maneira geral, pode ser classificado em duas categorias: testículo tubular anastomosado e testículo lobular (Parenti & Grier, 2004). O testículo tubular anastomosado possui compartimento germinativo formado por alças e túbulos ramificados que se interconectam da

periferia até o ducto testicular principal. Esse tipo de testículo é encontrado em de grupos de teleósteos menos derivados (“grupos basais”) como, por exemplo, nos Cypriniformes, Characiformes, Siluriformes e Salmoniformes. No testículo lobular, o compartimento germinativo apresenta formato digitiforme terminando em fundo cego na periferia dorso-lateral do testículo. Esse tipo de testículo é encontrado em teleósteos derivados e essa característica é, possivelmente, uma sinapomorfia dos Neoteleósteos (subdivisão de Euteleostei) (Grier, 1993; Parenti & Grier, 2004).

O compartimento intersticial é formado por vasos sanguíneos, células mióides, fibroblastos e células de Leydig. As células de Leydig encontram-se próximas a vasos sanguíneos e constituem a principal fonte de produção e secreção dos esteroides gonadais envolvidos na espermatogênese e, juntamente com as células de Sertoli, é responsável pela coordenação das funções testiculares (Pudney, 1998).

1.2. Ovários

Os ovários de peixes teleósteos, diferentemente de mamíferos, são cavitários em sua maioria, com o compartimento germinativo formado por lamelas ovígeras que se projetam a partir da cápsula em direção à luz do órgão. A cavidade ovariana é contínua com os oviductos que se unem caudalmente, e desembocam na papila urogenital. Esta organização é conhecida como tipo cisto-ovariana (Selman & Wallace, 1986; Connaughton & Aida, 1998).

Os ovários dos teleósteos podem ser classificados em três tipos, de acordo com o padrão de desenvolvimento oocitário: sincrônico, grupo-sincrônico e assincrônico. Quando a oogênese é sincrônica, todos os oócitos se desenvolvem concomitantemente e, como consequência, a desova é única e o período reprodutivo curto. Na oogênese grupo-sincrônica, duas populações de oócitos com estágios de desenvolvimento oocitário distintos estão presentes no ovário ao longo da estação reprodutiva. Enquanto na oogênese assincrônica, os ovários são preenchidos por oócitos em diferentes estágios de desenvolvimento. Nesse caso, a desova é dita parcelada, pois a ovulação ocorre mais de uma vez, prolongando o período reprodutivo (Nagahama, 1983, Selman & Wallace, 1989, Nejedly et al., 2004). Espécies marinhas do hemisfério norte em geral apresentam desenvolvimento sincrônico, enquanto espécies do hemisfério sul, exibem desenvolvimento oocitário assincrônico, indicando múltiplas desovas ao longo da estação reprodutiva (McMillan, 2007).

2. O epitélio germinativo

O epitélio germinativo, permanentemente ativo, que reveste os túbulos seminíferos e margeia as lamelas ovígeras é a fonte de renovação das células germinativas que asseguram e mantêm a continuidade da gametogênese nos peixes. Na última década, Grier e colaboradores redefiniram o conceito de epitélio germinativo tanto para os machos (Grier & Taylor, 1998; Grier & Lo Nostro, 2000; Grier, 2002) quanto para as fêmeas (Grier, 2000, 2002; Parenti & Grier, 2004; Grier *et al.*, 2005; 2007) dos peixes. A redefinição do epitélio germinativo na sua base celular tem sido crucial para o entendimento dos eventos cíclicos que regem o desenvolvimento gonadal e ocorrem anualmente ao longo da vida reprodutiva dos Teleostei.

Os estágios do desenvolvimento oocitário e da espermatogênese estão na base da caracterização histológica das classes/fases reprodutivas. Nos últimos anos com a adição sistemática de novas informações a visão tanto da espermatogênese como da oogênese tem se ampliado consideravelmente.

2.1. A espermatogênese

O epitélio germinativo masculino é formado por células germinativas (espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides) e por células somáticas (células de Sertoli), apoiadas sobre a membrana basal. O epitélio germinativo organiza-se em cistos de células germinativas de desenvolvimento sincrônico, envoltas por células somáticas responsáveis pela sustentação e compartimentalização dos lóbulos/túbulos em cistos, as células de Sertoli (Billard, 1986; Grier, 2002)

Os testículos lobulares/tubulares podem ser classificados em restritos e irrestritos, quanto à distribuição de espermatogônias. Na distribuição espermatogonial restrita, as espermatogônias concentram-se nas regiões distais do compartimento germinativo. Esse tipo de testículo é característico de teleósteos mais derivados como das ordens Atheriniformes, Cyprinodontiformes e Beloniformes (Parenti & Grier, 2004). Os testículos com distribuição espermatogonial irrestrita apresentam espermatogônias distribuídas ao longo do compartimento germinativo por toda extensão do órgão. Esse último padrão de distribuição espermatogonial é considerado mais primitivo, sendo encontrado em grupos taxonômicos menos relacionados como em Percopsiformes, Ophidiiformes e Perciformes (Parenti & Grier, 2004; Nóbrega, 2006; Schulz *et al.*, 2010).

Baseado em características morfofuncionais, a espermatogênese pode ser dividida em três fases: a *fase proliferativa ou espermatogonial*, caracterizada pela auto-renovação das espermatogônias-tronco e proliferação mitótica espermatogonial; a *fase meiótica ou*

espermatoctária, na qual o material genético é duplicado, recombinado e segregado; e a *fase de diferenciação ou espermiogênica*, em que as espermátides passam por transformações que culminam na formação dos espermatozóides (Russell *et al.*, 1990; Sharpe, 1994; Eddy, 1999). Os espermatozoides são então liberados no lúmen do lóbulo/túbulo seminífero e sofre a maturação espermática, tornando-se funcionalmente apto a fertilizar o oócito (Schulz & Miura, 2002; Miura & Miura, 2003; Schulz, 2003; Weltzien *et al.*, 2004).

Durante a fase proliferativa ou spermatogonial, a spermatogônia primária ou do tipo A se divide e origina spermatogônias secundárias ou do tipo B que, depois de um número espécie-específico de divisões mitóticas, diferenciam-se em spermatócitos primários, iniciando a fase meiótica ou spermatocitária. Após a primeira divisão meiótica formam-se os spermatócitos secundários que num curto intervalo de tempo originam as espermátides haplóides através da segunda divisão meiótica. Em seguida ocorre a fase espermiogênica ou de diferenciação na qual as espermátides se transformam

No processo de spermatogênese, na fase proliferativa, células diplóides da linhagem germinativa, as spermatogônias primárias ou do tipo A, sofrem múltiplas mitoses e algumas destas células se diferenciam em spermatogônias secundárias ou do tipo B, que após um número espécie-específico de divisões mitóticas diferenciam-se em spermatócitos, iniciando a fase meiótica. Ao contrário das fêmeas, que têm a divisão meiótica interrompida, na spermatogênese a divisão é contínua. O término da divisão meiótica resulta na produção de espermátides haplóides. A fase espermiogênica promove a eliminação das pontes citoplasmáticas e do citoplasma residual com a formação e diferenciação dos espermatozóides aptos a serem liberados no lúmen dos lóbulos/túbulos seminíferos (Grier, 1981; Le Gac & Loir, 1999; Schulz & Miura, 2002; Schulz, 2003). Em geral, a spermatogênese é um processo que se completa no interior dos cistos liberando os espermatozóides posteriormente para a luz dos túbulos seminíferos, processo denominado spermatogênese cística. Em algumas espécies de teleósteos, no entanto, os cistos se abrem antes do final da spermatogênese (semi-cística), que se completa na luz dos compartimentos seminíferos (Mattei *et al.*, 1993). Durante ciclo reprodutivo, o epitélio germinativo varia de contínuo a descontínuo. A predominância dos tipos celulares no epitélio germinativo e a continuidade ou descontinuidade do epitélio germinativo tem sido utilizadas para caracterizar as diferentes classes reprodutivas ao longo do ciclo reprodutivo (Grier, 2002).

2.2. A oogênese

A oogênese nos Teleostei tem recebido nos últimos anos uma atenção crescente, seja em relação à estrutura ovariana ou à dinâmica do epitélio germinativo. Nas gônadas femininas, os processos de renovação e regressão tecidual, ao longo do ciclo reprodutivo envolvem processos de proliferação e morte celular que se repetem a cada ano durante toda a vida destes animais.

Nas fêmeas de peixes teleósteos, ao contrário do que ocorre em mamíferos, o epitélio germinativo é dito ativo (Grier, 2000), isto porque produz células germinativas e foliculares indeterminadamente durante a vida reprodutiva (Tyler & Sumpter, 1996). O epitélio germinativo é formado por células somáticas e germinativas. As células germinativas femininas são as células primordiais ou oogônias que ao longo do desenvolvimento oocitário originam os oócitos pré-vitelogênicos e vitelogênicos (Gonçalves *et al.*, 2006). As células somáticas são as células epiteliais que ao longo do desenvolvimento oocitário originam as células de revestimento do oócito, as células pré-foliculares e foliculares, respectivamente (Grier, 2000).

A proliferação mitótica das células germinativas e das células somáticas é seguida pelo início das divisões meióticas das células germinativas e pela reorganização das células somáticas, conduzindo à formação das lamelas ovígeras e da cavidade ovariana. Após a diferenciação gonadal, o epitélio germinativo passa por modificações cíclicas anuais que perduram ao longo da vida reprodutiva (Grier, 2000).

Grier (2000), a primeira descrição em peixes do epitélio germinativo de fêmeas, relata o processo de formação do folículo ovariano. Segundo ele, as oogônias, primeiras células da linhagem germinativa, apresentam uma distribuição descontínua no epitélio germinativo que forma as lamelas ovígeras. No epitélio, a oogônia única pode entrar em meiose ou proliferar por mitose formando um aglomerado de células, os ninhos. Eles são os locais em que a proliferação das células germinativas ocorre (*sensu* Selman *et al.*, 1993). Dentro dos ninhos, os aglomerados de oogônias indiferenciadas se projetam para o estroma, envolvidos por células epiteliais e pela membrana basal, dando origem a novas oogônias que são progressivamente cercadas por células derivadas do epitélio, as células pré-foliculares. Oogônias diferenciadas proliferam por mitose nos ninhos, entrando em meiose e tornando-se oócitos. Na prófase I, subdividida em: leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno, a partir do paquíteno tardio e na fase inicial do diplóteno, os oócitos são individualizados pelas células pré-foliculares e deixam os ninhos germinativos, formando os folículos ovarianos. Os

folículos recém-formados são envolvidos por células mesenquimais oriundas do estroma ovariano que dão origem a teca, completando a formação dos complexos foliculares. No começo do crescimento pré-vitelogênico, a meiose é interrompida na fase de diplóteno, persistindo ao longo dos estágios de desenvolvimento: crescimento primário (pré-vitelogênese), crescimento secundário (vitelogênese) e desenvolvimento oocitário final.

No crescimento primário, ocorre intensa síntese de RNA ribossômico e RNA heterogêneo produzidos pelos múltiplos nucléolos contidos na periferia do núcleo (vesícula germinativa) do oócito. O diâmetro do oócito aumenta consideravelmente. Grande quantidade de glicoproteína é produzida pelo oócito da metade do estágio pré-vitelogênico até seu final. Esse material é incorporado por alvéolos recém-formados no córtex do oócito. Durante o crescimento primário, esses alvéolos corticais, aumentam em número e volume (Selman & Wallace, 1989). Nesse mesmo período, estudos da ultraestrutura do oócito, revelam que a zona radiata (córion) acompanha o crescimento do oócito. Microvilosidades da zona radiata existentes entre o oócito e as células foliculares (granulosa), estendem-se e promovem a manutenção do contato do oócito e as células da granulosa através de canais (poros) presentes nos microvilos (Abraham *et al.*, 1984; Iwamatsu *et al.*, 1995; Patiño & Sullivan, 2002). No crescimento secundário (vitelogênese), proteínas extra ovarianas são mobilizadas para os oócitos. Uma precursora plasmática sintetizada no fígado, a vitelogenina, é a principal, se não a única, precursora das proteínas vitelínicas (Tyler, 1991). Ela é transportada através do sangue para capilares, localizados entre a teca externa e interna. Em seguida, passa pela membrana basal e é conduzida através dos espaços intercelulares das células foliculares aos poros dos microvilos da zona radiata em contato com a superfície do oócito. Por meio de receptores membranares específicos, a vitelogenina é incorporada como glóbulos de vitelo e dissociada em duas proteínas fosforadas: a lipovitelina e a fosfovítina que atuam como fonte nutritiva para o embrião (Stifani *et al.*, 1990). Os alvéolos corticais que ocupavam em grande parte o oócito, nesse estágio, são compelidos novamente a se posicionarem na periferia da célula devido ao acúmulo centrípeto de proteínas vitelínicas no oócito (Blazer, 2002). O desenvolvimento oocitário final é caracterizado pela finalização do crescimento secundário (vitelogênese). Com a liberação do primeiro corpúsculo polar ao final da primeira divisão meiótica, ocorre uma nova interrupção na metáfase II da segunda meiose (Kagawa *et al.*, 1998; Patiño *et al.*, 2001). Assim, os oócitos maduros estão prontos para a fertilização e são liberados no lúmen ovariano pela ruptura do envelope folicular. Em seguida, são conduzidos através do oviducto até o poro urogenital onde ocorre a desova (Lessman, 1998). Durante a

fertilização, os espermatozóides penetram através de um ou dois poros denominados micrópila. A micrópila, localizada na superfície do envelope folicular, apresenta-se como uma estrutura côncava que viabiliza o acesso do espermatozóide, sem acrossoma, ao oócito. É formada pela célula micropilar, responsável pela oclusão do canal micropilar, e pelas células foliculares adjacentes que exibem características de células secretoras de proteínas ou glicoproteínas durante a vitelogênese, o que pode ser importante durante a fertilização (Redding & Patiño, 1993). A entrada do espermatozóide induz uma reação cortical do oócito com o deslocamento dos alvéolos corticais para o espaço perivitelínico, entre o oócito e a zona radiata, onde formam um envelope vitelínico protéico impermeável, impedindo a polispermia. Após a fertilização, a segunda meiose é finalizada, com a liberação do segundo corpúsculo polar (Iwamatsu *et al.*, 1995; Ha & Luchi, 1996).

Como mecanismo de eliminação de oócitos não viáveis, ocorre a atresia folicular. A ocorrência de atresia ou degeneração oocitária pode ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento e está relacionada, possivelmente, ao recrutamento de um determinado número de oócitos destinados a continuar o desenvolvimento e tornarem-se maduros (Saidapur, 1978; Ryan, 1981). A incidência de folículos atrésicos também pode estar relacionada a condições alimentares deficientes e ao controle da fecundidade em situações de estresse (Bromage & Cumaranatunga, 1987, 1988; Wallace *et al.*, 1993).

3. Terminologias para a Classificação das Classes/Fases Reprodutivas

3.1. Antecedentes – Multiplicidade de Terminologias Empregadas

A classificação macro e microscópica têm sido amplamente empregadas em estudos morfológicos das gônadas de peixes para a compreensão da biologia reprodutiva das espécies (Parenti & Grier, 2004).

As classificações baseadas na análise do desenvolvimento gonadal são variáveis de acordo com diferentes autores. Tal variação é inerente às metodologias empregadas refletindo em maior ou menor número de subdivisões. Muitas escalas, em vários idiomas, encontram-se em circulação (Sivertsen, 1935; Sorokin, 1957, 1960; Shirokova, 1977; Templeman *et al.*, 1978; Barbieri & Santos, 1988; Kjesbu, 1991; Fotland *et al.*, 1995; Vazzoler, 1996; Teles & Godinho, 1997, Tomkiewicz *et al.*, 2003). Basicamente, todas as terminologias seguem uma escala universal, modificada de acordo com as características específicas para cada grupo de espécies. Barbieri & Santos (1988) classificam o desenvolvimento ovariano em três estádios, Vazzoler (1996) em cinco, já Teles & Godinho (1997) em até seis.

O estabelecimento de parâmetros reprodutivos é importante para determinar fatores relacionados aos estádios de desenvolvimento gonadal, período reprodutivo, tipo de desova e estratégias reprodutivas (Vazzoler, 1996). Entretanto, esses parâmetros são comumente analisados independentemente e geralmente para uma espécie, havendo escassez de estudos holísticos, que envolvam várias espécies e com caráter comparativo (DeFalco & Capel, 2009).

Na prática, a análise macroscópica é mais utilizada, apesar da análise histológica proporcionar uma avaliação mais precisa, por ser um método menos dispendioso. No entanto, técnicas histológicas são necessárias nos estudos comparativos interespecíficos e/ou em diferentes épocas de amostragens ou quando é necessária uma análise mais rigorosa (Yaragina, 2010).

Dada a grande diversidade de classificações empregadas, torna-se necessária a padronização terminológica que facilite o estudo comparativo entre espécies de peixes de diferentes grupos e estratégias reprodutivas e proporcione uma melhor comunicação entre os pesquisadores da área. Várias comissões ictiológicas internacionais (como a ICES - International Council for the Exploration of the Sea, PICES - North Pacific Marine Science Organization, e a GFCM - General Fisheries Commission for the Mediterranean) vêm recomendando a uniformização das classificações entre países e pesquisadores (Ferrerri *et al.*, 2009). Nos últimos anos, propostas de terminologias para machos e fêmeas com essa finalidade têm sido sugeridas (Grier & Taylor, 1998; Taylor *et al.*, 1998; Lo Nostro *et al.*, 2003; Brown-Peterson *et al.*, 2011).

3.2. Propostas Recentes de Terminologias

3.2.1. As Classes/Fases Reprodutivas dos Machos

Uma nova proposta de classificação, com base na continuidade e descontinuidade do epitélio germinativo e nos tipos celulares presentes nas gônadas, define 5 classes reprodutivas durante o ciclo reprodutivo anual dos machos sexualmente aptos dos Teleostei. Os indivíduos virgens e, portanto, sexualmente imaturos não são considerados para efeito desta classificação. A classificação do epitélio germinativo em contínuo e descontínuo está relacionada à distribuição dos cistos ao longo da membrana basal que suporta o epitélio. A distribuição dos cistos varia de contínua a descontínua durante o ciclo reprodutivo. A espermição, acoplada ao esgotamento das espermatogônias primárias é a base das alterações do epitélio germinativo durante o ciclo reprodutivo anual. As 5 classes reprodutivas: regredida, maturação inicial, maturação intermediária, maturação final e em regressão (Grier

& Taylor, 1998; Grier, 2002; Lo Nostro *et al.*, 2003), como inicialmente descritas nos Perciformes, podem ser encontradas a seguir.

Regredida

Na classificação tradicional esta classe corresponde ao estágio de repouso. Na classe regredida, o epitélio germinativo é contínuo, sendo formado por espermatogônias e células de Sertoli. Nesta classe, ocorre a reorganização e o crescimento testicular, devido ao repovoamento pelas espermatogônias e a divisão mitótica das células de Sertoli. Portanto, a classe regredida é marcada por intensa atividade mitótica das células germinativas (espermatogônias) e das células somáticas (células de Sertoli), sendo, desta forma, o uso do termo “repouso” inadequado para designá-la (Brown-Peterson *et al.*, 2002).

Maturação Inicial

Na maturação inicial, o epitélio germinativo é contínuo e caracteriza-se por já possuir cistos de espermatócitos e de espermátides, indicando que a espermatogênese teve início. Devido ao desenvolvimento dos espermatocistos (cistos), o epitélio torna-se alto, e o lúmen dos lóbulos em geral é parcialmente obliterado. Com a espermição tendo início, os espermatozóides vão sendo liberados dos espermatocistos, e o lúmen dos lóbulos torna-se dilatado e contínuo. O testículo como um todo se torna maior.

Maturação Intermediária

A maturação intermediária é caracterizada pela presença de um epitélio germinativo descontínuo na região próxima ao ducto, enquanto na periferia o epitélio ainda é contínuo. Conforme a espermição progride, o componente germinativo do epitélio germinativo vai sendo perdido. As espermatogônias e os espermatocistos contendo células germinativas tornam-se dispersos ao longo da membrana basal do lóbulo e são separados por células de Sertoli.

Maturação Final

A maturação final inicia-se quando pelo menos um lóbulo, em sua porção distal, apresenta epitélio descontínuo. Com o progresso da maturação, o epitélio descontínuo torna-se predominante em toda a extensão do lóbulo, e o esgotamento das células germinativas nos lóbulos se estende para a periferia testicular. O testículo sofre uma transformação de produção para estocagem dos espermatozóides, tendo início na região do ducto testicular. As espermatogônias já começam a surgir dispersas ao longo dos lóbulos e iniciam o repovoamento.

Regressão

A regressão é marcada por uma queda brusca do IGS, epitélio germinativo descontínuo, presença de cistos dispersos e em degeneração, espermatozóides residuais na luz e sendo fagocitados pelas células de Sertoli e proliferação das espermatogônias. Uma grande quantidade de centros melanomacrofágicos pode estar presente nessa classe.

3.2.2. As Classes/Fases Reprodutivas das Fêmeas

Em comparação com os machos o epitélio germinativo que margeia as lamelas ovígeras é sempre descontínuo ao longo do ciclo reprodutivo das fêmeas. Por esta razão, a caracterização das classes reprodutivas nas fêmeas não pode utilizar os mesmos critérios aplicados aos machos. Consequentemente as classes reprodutivas nas fêmeas são definidas com base no desenvolvimento oocitário (Taylor *et al.*, 1998).

Por definição, e em correspondência com os machos (Taylor *et al.*, 1998), são nominadas cinco classes reprodutivas nas fêmeas:

Regredida

Na classificação tradicional, esta classe corresponde ao estágio de repouso. Na classe regredida as lamelas ovígeras contêm somente oócitos pré-vitelogênicos em diferentes faixas de tamanho. São os oócitos do estoque de reserva das classificações tradicionais.

Maturação inicial

Na classe de maturação inicial, as lamelas ovígeras contêm oócitos com deposição de lipídio próximo ao núcleo, alvéolos corticais em formação e em início de deposição de vitelo.

Maturação intermediária

Na classe de maturação intermediária, as lamelas ovígeras contêm oócitos em vitelogênese, mas principalmente aqueles já com grande quantidade de vitelo.

Maturação final

Na classe de maturação final, as lamelas ovígeras contêm oócitos com citoplasma totalmente preenchido pelos grânulos de vitelo e núcleo migrando para o pólo animal. A fusão e a hidratação do vitelo ocorrem e é seguida pela ovulação. A ovulação é detectada pela presença dos folículos vazios.

Regressão

Na classe de regressão, as lamelas ovígeras já não contêm oócitos maduros, aqueles não ovulados entram em atresia e os folículos vazios regridem.

3.2.3. Proposta de Terminologia Simplificada para Classificação Reprodutiva de Machos e Fêmeas

Na tentativa de facilitar a comunicação e comparação dos estudos sobre a biologia reprodutiva dos peixes, Brown-Peterson, Lowerre-Barbieri, Macewicz, Saborido-Rey, Tomkiewicz e Wyanski (2007-2011) vêm se empenhando nos últimos anos no desenvolvimento de uma terminologia que pretendem seja mais simples, e aplicável a machos e fêmeas. Estes autores reconhecem ao longo do ciclo reprodutivo dos indivíduos aptos à reprodução, fases que se iniciam com a gônada *Em Desenvolvimento*, progride para *Apto a Extrusão/Desova*, *Extrusão/Desova Ativa*, entra *Em Regressão* e *Em Regeneração*. Gônadas *Imaturas* seriam conforme esses critérios aquelas dos indivíduos que ainda não estão aptos para a reprodução, isto é, ainda fora do ciclo reprodutivo, ditos juvenis. As correspondências dessas denominações para as anteriores e a caracterização histológica das mesmas, podem ser apreciadas na tabela apresentada pelos autores (aqui traduzida e transcrita) e que vêm sendo divulgada em vários encontros científicos da área.

Fases do ciclo reprodutivo de peixes. O tempo de cada fase é espécie-dependente. Esquemas de classificação histológica de espécies individuais podem ser adicionados como subfases dentro de cada fase definida. Alguns critérios listados para as fases podem variar dependendo da espécie, estratégia reprodutiva ou temperatura da água (Brown-Peterson *et al.*, 2011)

Fase	Terminologia anterior	Fêmeas	Machos
Imaturo Nunca desovado	Imaturo, virgem	Apenas oogônias e oócitos em crescimento primário, incluindo cromatina nucleolar e perinucleolar. Usualmente não ocorre atresia.	Testículos pequenos, apenas espermatogônias primárias, sem lúmen nos lóbulos.
Desenvolvimento Gônadas em início de desenvolvimento, não irá desovar logo	Maturando, desenvolvimento inicial, maturação inicial, pré-vitelogênese	Os oócitos nesse estágio podem apresentar: crescimento primário, alvéolos corticais e/ou início de vitelogênese. Não há evidência de POFs. Alguns em atresia podem estar presentes. Peixes com fecundidade indeterminada: presença de oócitos em vitelogênese intermediária.	Início da espermatogênese e formação de cistos. Espermatogônias secundárias, espermatócitos primários, espermatócitos secundários, espermátides e espermatozóides podem estar presentes nos cistos. Espermatozóides não estão presentes no lúmen dos lóbulos ou ductos espermáticos. O epitélio germinativo é contínuo.
Apto a desovar O peixe irá desovar neste ciclo (ou estação)	Desenvolvimento final, maturação final, grávida e vitelogênese	Presença de oócitos vitelogênicos. Algumas atresias e POF tardio podem estar presentes. <i>Fecundidade determinada:</i> Predominância de oócitos vitelogênicos finais, a estimativa da fecundidade potencial foi feita na sub-fase sem POF. <i>Fecundidade indeterminada:</i> Prevalência de oócitos vitelogênicos intermediários e finais (com ou sem evidência de desova anterior, POFs); ou oócitos vitelogênicos iniciais com evidência de desova anterior (POFs). Oócitos menos desenvolvidos estão frequentemente presentes.	Espermatozóides no lúmen dos lóbulos e/ou ductos espermáticos. Todos os estágios da espermatogênese (espermatogônias, espermatócitos, espermátides) podem estar presentes. Cistos ao longo do testículo. O epitélio germinativo contínuo ou descontínuo. Macroscopicamente, testículos grandes mas o esperma não é liberado com uma pressão suave. Histologicamente indistinguível da fase de Desova Ativa.

Desova ativa Iminente, desova recente ou ativa	Maduro, FOM, desova	Ovulando (desovando) ou aproximadamente 12 h antes ou depois da desova como indicado tanto por GVM, GVBD/oócitos hidratados, ou POFs < ~12 h de idade. Atresia de oócitos vitelogênicos finais/hidratados podem estar presentes. <i>Fecundidade indeterminada</i> : oócitos menos desenvolvidos estão frequentemente presentes. A estimativa de fecundidade e frequência de desova feita em 12h antes e depois das sub-fases de desova.	Espermatozoides no lúmen dos lóbulos e/ou ductos espermáticos. Todos os estágios da espermatogênese (espermatogônias, espermatócitos, espermátides) podem estar presentes. Cistos ao longo do testículo. O epitélio germinativo contínuo ou descontínuo. Macroscopicamente, o esperma flui livremente com uma pressão suave. Histologicamente indistinguível da fase Apta a desova.
Regressão Cessa a desova	Esgotado, regressão, pós desova, recuperação	Presença de atresia (em qualquer estágio). A maioria dos oócitos vitelogênicos sofre atresia alpha ou beta comum. Oócitos menos desenvolvidos estão frequentemente presentes. POFs podem estar presentes.	Presença de espermatozoides residuais no lúmen dos lóbulos e ductos espermáticos. Cistos amplamente espalhados próximos à periferia contendo espermátides. Proliferação e regeneração espermatogonial do epitélio germinativo comum na periferia do testículo. Macroscopicamente, testículos pequenos e esperma não liberado com pressão.
Em regeneração Maduro sexualmente, reprodutivamente inativo	Repouso, regredido, em recuperação	Presença apenas de oogônias e oócitos em crescimento primário, incluindo oócitos profásicos e oócitos pré-vitelogênicos. Feixes musculares, amplos vasos sanguíneos, parede ovariana espessa e/ou atresia gama, delta podem estar presentes.	Testículos pequenos. Sem cistos. Lúmen dos lóbulos pequenos ou inexistentes. Proliferação de espermatogônias primárias, ocasionalmente secundárias, por todo testículo. Espermatozoides residuais estão ocasionalmente presentes no lúmen dos lóbulos e ducto espermático.

Legenda: Descrição geral das fases dos ciclos reprodutivos em peixes. O tempo de cada fase é espécie-dependente. Anteriormente, esquemas da classificação histológica desenvolvida de espécies individuais podem ser adicionados como subfases dentro de cada fase definida. Alguns critérios listados para as fases podem variar dependendo da espécie, estratégia reprodutiva ou temperatura da água.

Fonte: Gulf Cost Research Laboratory- http://www.usm.edu/gcrl/research/gonadal_terminology.php

4. Os Teleostei – Grupos Basais e Derivados

Os peixes constituem o grupo mais numeroso e diverso entre os vertebrados, com representatividade de aproximadamente 50%. Atualmente são conhecidas cerca de 23700 espécies vivas de peixes, sendo 96% pertencentes à infraclasse Teleostei que compreende diversas ordens, entre elas as superordens Ostariophysi e Acanthopterygii (Nelson, 2006).

A superordem Ostariophysi, considerada um grupo basal entre os teleósteos, é composta pelas séries Anatophysi, representada pela ordem Gonorynchiformes, e a série Otophysi, representada pelas ordens Gymnotiformes, Characiformes, Siluriformes e Cypriniformes (Fink e Fink, 1981).

A ictiofauna de águas continentais centro e sul-americanas, com 4.475 espécies descritas, é dominada pela série Otophysi, que representa aproximadamente 73% dessas espécies. E, inserida na superordem Acanthopterygii, e considerado um grupo derivado, a família Cichlidae, da ordem Perciformes representa cerca de 9% desse total.

5. O Modelo Biológico

O conhecimento da biologia reprodutiva constitui uma ferramenta importante para a preservação e/ou manejo das espécies. Estudos da ictiofauna neotropical são essenciais, dada a grande diversidade existente. Nesse sentido, o presente estudo, em caráter comparativo, analisou aspectos reprodutivos de espécies de grupos basais da série Otophysi (Superordem Ostariophysi) e uma espécie representativa de grupos derivados de Teleostei da ordem Perciformes. Da série Otophysi foram analisadas as quatro ordens que a compõe, as ordens Siluriformes, Characiformes, Gymnotiformes e Cypriniformes. Da ordem Siluriformes, foi analisada a espécie pertencente à família Pimelodidae, *Sorubim lima* (Jurupecê); da ordem Characiformes, a espécie da família Erythrinidae, *Hoplias malabaricus* (traíra); da ordem Gymnotiformes, a espécie da família Gymnotidae, *Gymnotus* sp. (tuvira); da ordem Cypriniformes, a espécie da família Cyprinidae, *Tanichthys albonubes* (Taniets); e da ordem Perciformes, a espécie pertencente à família Cichlidae, *Cichla temensis* (tucunaré azul).

5.5.1. *Cichla temensis* (Perciformes)

Os peixes do gênero *Cichla*, conhecidos popularmente como tucunarés, pertencem à família Cichlidae e estão amplamente distribuídos pelas bacias do Amazonas, Orinoco e rios das Guianas (Kullander & Nijssen, 1989). São piscívoros diurnos da América do Sul que consomem uma variedade de presas. Quando em ambientes exóticos, podem interferir na composição e estrutura da comunidade, assim como no ecossistema em que foram introduzidos (Zaret & Paine, 1973; Winemiller, 1989). Devido ao seu uso na pesca esportiva, eles têm sido inseridos em muitos países (Winemiller, 2001). Também são utilizados no comércio pesqueiro e para a subsistência de pescadores (Muñoz et al., 2006). Apresenta desova parcelada (Jepsen *et al.*, 1999) e reprodução dependente da sazonalidade (Lowe-McConnell, 1969; Jepsen *et al.*, 1997).

5.5.2. *Gymnotus* sp. (Gymnotiformes)

As espécies do gênero *Gymnotus*, pertencentes à família Gymnotidae, conhecidos regionalmente como tuviras ou sarapós, têm um amplo alcance geográfico, sendo encontrados nas planícies da América do Sul e Central em diversos ambientes aquáticos (Albert & Crampton, 2003; Campos-da-Paz, 2003). Eles possuem hábito noturno e têm preferência por águas lânticas com densa vegetação macrofítica (Albert & Crampton, 2003). A capacidade de gerar e detectar campos elétricos de diferentes intensidades permite a eles detectar outros animais ou objetos, explorar o habitat e comunicar-se intra-especificamente (Bennet, 1971).

Alguns estudos abordando a reprodução em Gymnotiformes apontam para desova do tipo parcelada, que se estende de outubro a dezembro, cuidado parental da prole e reprodução dependente da sazonalidade (Barbieri & Barbieri, 1985; Kirschbaum & Schugardt, 2003; Crampton & Hopkins, 2005; Cognato & Fialho, 2006; França, *et al.*, 2010).

5.5.3. *Hoplias malabaricus* (Characiformes)

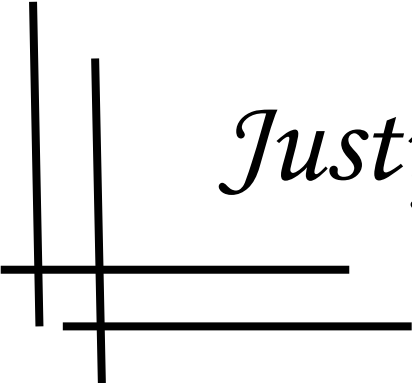
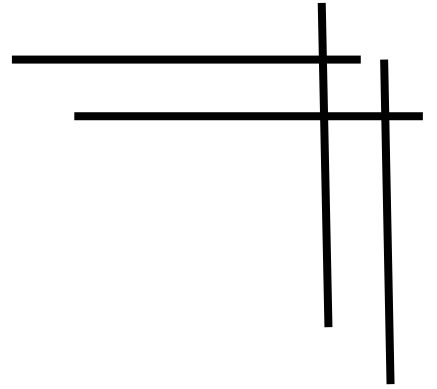
Hoplias malabaricus, membro da família Erythrinidae, está amplamente distribuído na região neotropical, ocorrendo em quase todas as bacias hidrográficas da América do Sul, exceto no oeste dos Andes e rios da Patagônia (Fowler, 1950). São adaptadas a ambientes lênticos, ocorrendo também em pequenos e grandes rios. Exibem desova múltipla, período reprodutivo prolongado e comportamento de cuidado parental. Os ovos são adesivos e liberados em ninhos de espuma (Godoy, 1975; Caramaschi & Godinho 1982; Vazzoler *et al.*, 1997).

5.5.4. *Sorubim lima* (Siluriformes)

Sorubim lima, conhecido como jurupê ou bico-de-pato, é uma espécie migratória de longa distância pertencente à família Pimelodidae. Está presente nas bacias hidrográficas do Amazonas, Orinoco, Parnaíba e Paraná (Graça & Pavanelli, 2007; Shibatta & Bockmann, 2007), ocorrendo em rios, lagoas e canais (Graça & Pavanelli, 2007). É um bagre de importância econômica pelo sabor de sua carne. A espécie não se reproduz em ambiente lêntico e, segundo Nakatani *et al.* (2001), não existem informações sobre seus ovos e nem de sua eclosão. Na bacia do rio Paraná a reprodução ocorre nos meses de novembro e dezembro (Vazzoler, 1996).

3.5.5. *Tanichthys albonubes* (Cypriniformes)

O gênero *Tanichthys*, pertence à subfamília Rasborinae (=Danioninae), membro primitivo da família Cyprinidae. É endêmico da China e apresenta duas espécies, *Tanichthys albonubes* Lin e *Tanichthys micagemmae* Freyhof & Herder (Yue & Chen, 1998; Freyhof & Herder, 2001; Kottelat, 2001). *T. albonubes*, popularmente conhecido como Tanictis ou Néon Chinês, é um dos menores Cypriniformes conhecidos, com tamanho corporal entre 3-4cm, atingindo sua maturidade sexual com apenas três meses de idade. Possui pequeno tamanho e rápido desenvolvimento sexual.



Justificativa e Objetivos

A redefinição do epitélio germinativo nas suas bases celulares tem sido decisiva na compreensão dos fenômenos cíclicos que regem o desenvolvimento gonadal ao longo da vida reprodutiva dos Teleostei (Grier & Taylor, 1998; Grier & Lo Nostro, 2000; Grier, 2000; 2002). Os dados até então disponíveis concentram-se nos grupos mais derivados entre os Teleostei e somente na última década começam a ser encontrados para os grupos mais basais, caso dos Ostariophysi. Siluriformes, Characiformes, Gymnotiformes, Cypriniformes e Gonorynchiformes, juntos constituem a superordem Ostariophysi, que representa cerca de 75% das espécies de peixes de água doce do mundo (Fink & Fink, 1981; Nelson, 1994, 2006). A terminologia e os esquemas utilizados sejam na descrição dos ciclos testiculares e ovarianos anuais e/ou da evolução da espermatogênese e da oogênese nos peixes diferentemente do que ocorre com os mamíferos não é uniforme. Esta falta de unicidade gera controvérsias que muitas vezes atrapalham o entendimento mais amplo destes processos. Grier e colaboradores (2009) numa extensa revisão sobre o assunto propõem uma terminologia e um esquema que contemplam tanto os aspectos morfológicos quanto fisiológicos do ciclo ovariano anual e da oogênese. Grier e Uribe-Aranzábal (2009) fazem uma proposta semelhante para os machos. Esses autores sugerem que a despeito da proposta ser oriunda de estudos provenientes principalmente de espécies marinhas, pertencentes à ordem Perciformes, ela seria aplicável também aos demais taxa dentro de Teleostei.

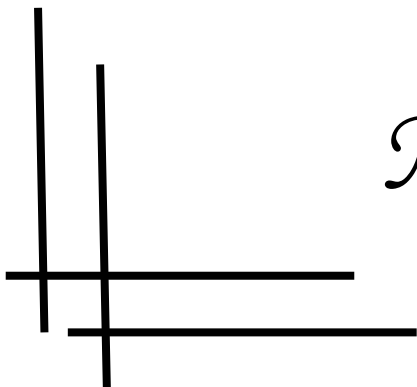
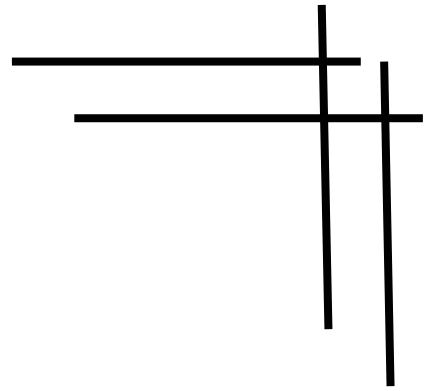
Também Brown-Peterson e colaboradores (2007-2011) na tentativa de facilitar a comunicação e comparação dos estudos sobre a biologia reprodutiva dos peixes vêm trabalhando no sentido de aprimorar sua proposta que inclui os conceitos de epitélio germinativo difundidos por Grier (2000). A maior dificuldade no uso de ambas as propostas deve-se, no entanto, ao fato de que as mesmas foram desenvolvidas primariamente para as espécies marinhas e notadamente para os Perciformes.

Principalmente no que diz respeito à oogênese nos teleósteos, as informações mais divulgadas são, principalmente, oriundas dos estudos com Perciformes marinhos e as existentes sobre grupos mais basais como os Ostariophysi apesar de localmente conhecidas, permanecem ainda hoje mais restritas às publicações regionais. Estudos recentes têm exposto, no entanto, diferenças significativas no padrão de desenvolvimento oocitário entre espécies marinhas e as de água doce, ou entre os taxa mais basais em relação àqueles mais derivados (ver Le Menn *et al.*, 2007; Grier *et al.*, 2009, para revisão).

Nesse sentido, para efeitos comparativos entre grupos basais e derivados de Teleostei, tomou-se uma espécie representativa de cada ordem da série Otophysi (Superordem Ostariophysi) e uma espécie representativa dos Perciformes. Dentro da superordem Ostariophysi, a série Otophysi é composta pelas ordens Siluriformes, Characiformes, Gymnotiformes e Cypriniformes, excetuando apenas a ordem Gonorynchiformes. Da ordem Siluriformes, foi analisada a espécie pertencente à família Pimelodidae, *Sorubim lima* (Jurupecê); da ordem Characiformes, a espécie da família Erythrinidae, *Hoplias malabaricus* (traíra); da ordem Gymnotiformes, a espécie da família Gymnotidae, *Gymnotus* sp. (tuvira); da ordem Cypriniformes, a espécie da família Cyprinidae, *Tanichthys albonubes* (Tanicts); e da ordem Perciformes, a espécie pertencente à família Cichlidae, *Cichla temensis* (tucunaré azul).

Com base nas proposições expostas e, na tentativa de responder algumas dessas questões, foram analisadas:

- (1) As características histológicas das gônadas durante o ciclo reprodutivo de fêmeas e machos de *Sorubim lima*, *Hoplias malabaricus*, *Gymnotus* sp., *Tanichthys albonubes* e *Cichla temensis*, e sua correlação com o Índice Gonadossomático, na tentativa de compatibilizar as dissonâncias sempre existentes entre as classificações biométricas e a verificação microscópica do estado de desenvolvimento, seja dos testículos ou dos ovários;
- (2) Teceu-se um paralelo entre a classificação de Vazzoler (1996) para as fases reprodutivas dos machos e fêmeas e as classificações propostas por Grier e colaboradores (Taylor *et al.*, 1998; Brown Peterson *et al.*, 2002; Grier, 2002) e também para a proposta de Brown-Peterson e seus colaboradores (2007-2011);
- (3) Foi descrita à microscopia de luz as características dos estágios das células germinativas masculinas durante a espermatogênese e os eventos iniciais da foliculogênese em fêmeas;
- (4) Foi determinada, em machos e fêmeas, a fase em que a proliferação das células somáticas e germinativas é mais intensa ao longo do ciclo reprodutivo;
- (5) E, foi analisado o desenvolvimento oocitário de *Sorubim lima*, *Hoplias malabaricus*, *Gymnotus* sp., *Tanichthys albonubes* e *Cichla temensis* com intuito de se obter um esquema representativo da oogênese nos Teleostei mais basais que permita a sua distinção em relação aos esquemas hoje existentes para os grupos mais derivados, como os Perciformes, notadamente os Neotropicais.



Materiais e Métodos

1. Os Espécimes Analisados

Gônadas masculinas e femininas de espécimes adultos representantes dos Perciformes, *Cichla temensis*, e da série Otophysi, *Gymnotus* sp. (Gymnotiformes), *Hoplias malabaricus* (Characiformes), *Sorubim lima* (Siluriformes) e *Tanichthys albonubes* (Cypriniformes), foram coletados mensalmente durante o período de um ano. Este material já foi objeto de análise segundo os moldes tradicionais e constam do acervo de réplicas existente no Laboratório de Biologia da Reprodução de Peixes Neotropicais do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências de Botucatu/UNESP. Portanto, dispõe-se do registro dos dados biométricos para todas as espécies e da classificação macroscópica das gônadas para *Cichla temensis* e *Hoplias malabaricus*.

Cichla temensis, totalizando 52 machos ($851,51 \pm 433,21$ g e $38,9 \pm 5,89$ cm) e 51 fêmeas ($807,31 \pm 420,99$ g e $37,86 \pm 3,97$ cm), foram coletados na Reserva de Volta Grande, Minas Gerais ($48^{\circ}25'/47^{\circ}35'W$ e $19^{\circ}57'/20^{\circ}10'S$), no período de agosto de 1996 a julho de 1997.

Gymnotus sp., totalizando 94 machos ($157,11 \pm 52,28$ g e $36,84 \pm 4,72$ cm) e 76 fêmeas ($119,02 \pm 40,49$ g e $32,54 \pm 3,62$ cm), foi coletado no Rio Tietê, São Paulo ($22^{\circ}41'00.9''S$ e $48^{\circ}19'58.1''W$), no período de maio de 2006 a abril de 2007.

Hoplias malabaricus, totalizando 59 machos ($290,02 \pm 201,57$ g e $28,16 \pm 5,23$ cm) e 51 fêmeas ($272,51 \pm 179,74$ g e $26,34 \pm 4,9$ cm), foi coletado na Reserva de Jurumirim, Rio Alto Paranapanema, São Paulo ($23^{\circ}31'10''S$ e $48^{\circ}42'35''W$), no período de fevereiro de 1997 a janeiro de 1998.

Sorubim lima, totalizando 44 machos ($32,45 \pm 3,7$ g e $179,3 \pm 68,84$ cm) e 39 fêmeas ($39,1 \pm 5,36$ g e $372,15 \pm 145,08$ cm), foi coletado do Setor de Hidrologia e Aquicultura de Salto Grande/CESP, São Paulo, no período de março de 1995 a fevereiro de 1996.

Tanichthys albonubes, totalizando 60 machos ($2,83 \pm 0,26$ g e $0,19 \pm 0,06$ cm) e 77 fêmeas ($2,9 \pm 0,28$ g e $0,23 \pm 0,07$ cm), foram adquiridos em lojas de aquariofilia e mantidos em aquários de 300 litros com condições de oxigenação, temperatura, luminosidade e pH adequados à espécie, até que atingissem seu período reprodutivo. Os espécimes foram coletados de setembro de 2010 a agosto de 2011.

2. Obtenção dos Dados Biométricos

Para cada animal foram registrados o comprimento-total (L_t), que é a distância, em centímetros, entre o focinho e o pedúnculo caudal, o peso total (W_t), e o peso da gônada (W_g) em gramas. O comprimento-total, em centímetros, foi obtido com auxílio de ictímetro. O

peso foi determinado em balança de precisão com sensibilidade de 0,01g. Os dados biométricos obtidos foram utilizados para calcular o Índice Gonadossomático (IGS). O Índice Gonadossomático (percentagem que as gônadas representam do peso total do indivíduo), assim como o Índice Gonadal (que expressa a relação entre o peso das gônadas e o comprimento total do indivíduo elevado à potência b), é utilizado como um indicador do estado funcional das gônadas (Vazzoler, 1996).

O Índice Gonadossomático é calculado pela fórmula $IGS = W_g / W_t \times 100$, onde:

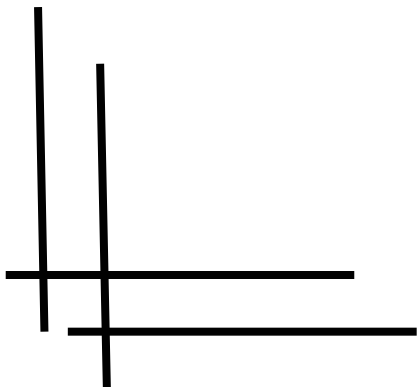
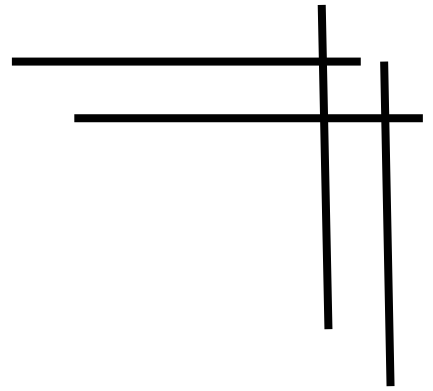
IGS= Índice Gonadossomático; W_g = peso da gônada; W_t = peso total

3. Preparação do Material para a Microscopia de Luz

Para microscopia de luz, as gônadas dos animais fixadas em solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% em tampão Sorensen (0,1M a pH 7,2) por pelo menos 24 horas, foram desidratadas em uma série crescente de álcool (70% por 2 horas; 95% por no máximo 4 horas), infiltradas e incluídas em resina Technovit 7100. Cortes longitudinais com 3µm de espessura, obtidos com navalhas de vidro foram corados com Hematoxilina Férrica/Eosina, Azul de Toluidina-Bórax e PAS+Hematoxilina+Metanil Yellow (Quintero-Hunter *et al.*, 1991) e pelo método de Reticulina.

4. Forma de Análise dos Resultados

Através das metodologias empregadas (consideradas as novas proposições para a caracterização das classes/fases reprodutivas) traçou-se um paralelo entre a classificação macroscópica das gônadas, o Índice Gonadossomático e o status histológico em *C. temensis* e *H. malabaricus*, e entre o Índice Gonadossomático e o status histológico em *Gymnotus* sp., *Sorubim lima* e *Tanichthys albonubes*. A partir da documentação estrutural da oogênese (comparando-se com as propostas existentes para os taxa mais derivados como os Perciformes marinhos): construiu-se um esquema do desenvolvimento oocitário que pode vir a ser utilizado como um modelo para Ostariophysi (notadamente a série Otophysi com desova parcelada) e para os Perciformes de água doce, respectivamente.



Resultados

1. MACHOS

1.1. Análise Macroscópica

Para a caracterização macroscópica, foi descrita a estrutura testicular de uma espécie pertencente a um grupo derivado de teleósteos, *Cichla temensis* (Perciformes), e quatro espécies representantes de grupos basais da série Otophysi (Superordem Ostariophysi), *Gymnotus* sp. (Gymnotiformes), *Hoplias malabaricus* (Characiformes), *Sorubim lima* (Siluriformes) e *Tanichthys albonubes* (Cypriniformes), coletadas mensalmente durante o período de um ano.

As gônadas masculinas de todas as espécies analisadas são pares, posicionadas longitudinalmente na região dorsal da cavidade abdominal, com a porção caudal das gônadas confluindo em um ducto único que desemboca no poro urogenital, localizado ventro-caudalmente. Essa disposição dos órgãos reprodutivos masculinos apresenta divergências em *Gymnotus* sp., em que os testículos dispõem-se longitudinalmente na região ventral da cavidade abdominal, de onde partem dois ductos que confluem em um ducto único para o poro urogenital, localizado na região ventro-cranial.

A organização testicular em *Cichla temensis* segue o arranjo típico descrito para espécies de grupos derivados. Os órgãos reprodutivos são lobulares. Apresentam cada um, uma extremidade cranial afilada, uma parte média de forma triangular e uma porção caudal (distal) que se afila gradualmente confluindo até unir-se ao outro testículo, desembocando na papila urogenital. Externamente, são revestidos por uma cápsula de tecido conjuntivo que se projeta para o interior do órgão formando septos fibrosos que atravessam os testículos em sentido radial, formando lóbulos com formato digitiforme que terminam em fundo cego na periferia dorso-lateral do testículo.

Nas demais espécies, pertencentes a grupos basais, os testículos são do tipo tubular anastomosado. Possuem formato alongado e são revestidos por uma cápsula de tecido conjuntivo que se projeta para o interior do órgão formando septos fibrosos, dividindo-o em alças e túbulos ramificados que se interconectam da periferia até o ducto testicular, confluindo para o poro urogenital na região ventro-caudal. Diferentemente das outras espécies que apresentam superfície testicular lisa, em *Sorubim lima* (Siluriformes), os testículos apresentam projeções em franjas, de diferentes tamanhos e formas, em toda a sua extensão.

Seguindo a classificação descrita por Vazzoler (1996), os testículos de indivíduos adultos de *Cichla temensis*, representante da ordem Perciformes (grupo derivado), e *Hoplias malabaricus*, representante da ordem Characiformes (grupo basal), coletados mensalmente de

agosto/1996 a julho/1997 e de fevereiro/1997 a janeiro/1998, respectivamente, foram analisados macroscopicamente, durante a dissecação, determinando quatro fases reprodutivas, de acordo com a forma, coloração e vascularização dos órgãos (**Gráficos 1 e 2**):

Estádio I - Repouso: Gônadas pequenas, filamentosas, translúcidas e sem vascularização.

Estádio II - Em maturação: Gônadas maiores e opacas. A vascularização torna-se visível.

Estádio III - Maduro: Gônadas com coloração esbranquiçada e são vascularizadas. Ocupam grande parte da cavidade abdominal.

Estádio IV – Semi-Esgotado: Gônadas flácidas, de tamanho relativamente grande, mas pouco volumosas. Caracterizadas principalmente pela presença de zonas hemorrágicas.

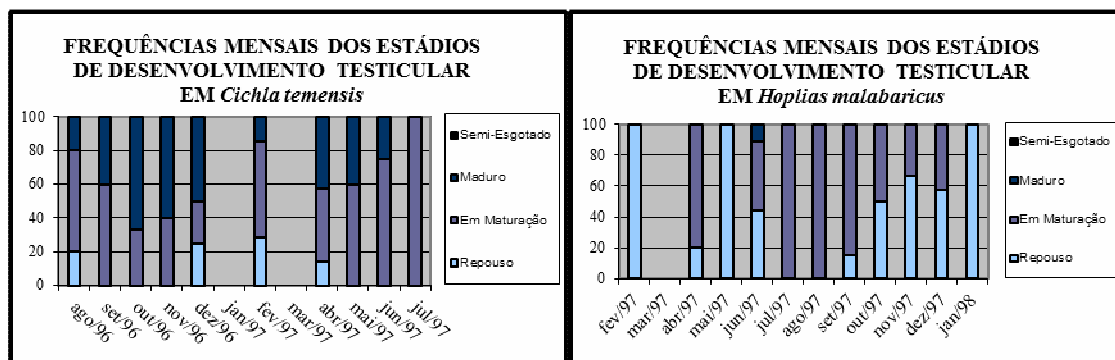


Gráfico 1 e 2. Frequências mensais dos estádios de desenvolvimento testicular em *Cichla temensis* (n= 52) e *Hoplias malabaricus* (n= 59).

Conforme os gráficos 1 e 2, a análise macroscópica mensal dos testículos evidencia um período reprodutivo que se concentra, sobretudo, de setembro a dezembro, com valores significantes em abril e maio, em *Cichla temensis*, e em junho em *Hoplias malabaricus*.

Ainda de acordo com os gráficos, em ambas as espécies não foram observados indivíduos em estágio de desenvolvimento testicular semi-esgotado, o que pode ter ocorrido em uma análise, em primeira instância, devido à ausência de espécimes nesse estágio nas coletas realizadas ou como consequência de deficiências da análise macroscópica. Para dados mais acurados, foi necessário prosseguir a análise com observações microscópicas das gônadas a fim de verificar se há ou não correspondência entre a análise macro e microscópica.

1.2. Análise Microscópica

Os testículos são externamente formados por uma cápsula de tecido conjuntivo, a túnica albugínea, que emite septos para o interior do órgão, formando túbulos/lóbulos seminíferos. O

epitélio germinativo, que forma a parede dos túbulos ou lóbulos, é composto por células da linhagem germinativa (espermatogônias, espermatócitos e espermátides, organizados em cistos e espermatozoides livres no lúmen dos túbulos/lóbulos) e células somáticas (células de Sertoli, que formam a parede do cisto). No compartimento intersticial é possível observar células de Leydig e vasos sanguíneos (**Fig.1-5A**). No interior dos cistos, o desenvolvimento das células germinativas é sincrônico e, em função do processo de maturação e liberação dessas células no lúmen, o epitélio passa de contínuo a descontínuo.

1.2.1. Células Somáticas e Desenvolvimento das Células Germinativas Masculinas

A caracterização morfológica das células somáticas e dos estágios de desenvolvimento das células germinativas foi realizada em machos das cinco espécies de estudo, *Cichla temensis*, *Gymnotus* sp., *Hoplias malabaricus*, *Sorubim lima* e *Tanichthys albonubes*, apresentando semelhança estrutural interespecífica e, portanto aqui caracterizados de forma geral.

Células Somáticas

Células de Sertoli: Células que envolvem as células da linhagem germinativa, compartimentando os túbulos/lóbulos em cistos de desenvolvimento sincrônico. O núcleo da célula é ligeiramente triangular, com a cromatina dispersa e citoplasma de difícil visualização (**Fig.1C e 2-4B**).

Células de Leydig: Células ovais com núcleo excêntrico e nucléolo evidente, encontradas no interstício dos túbulos/lóbulos seminíferos. Frequentemente são observadas próximas a vasos sanguíneos (**Fig.1-5A**).

Células Germinativas

As células germinativas masculinas podem ser diferenciadas pelo tamanho, formato nuclear e grau de compactação da cromatina. Ao longo da espermatogênese, ocorre redução do tamanho das células e aumento do grau de compactação da cromatina nuclear de forma progressiva, permitindo a distinção dos diferentes estágios celulares da linhagem germinativa.

Espermatogônias Indiferenciadas: São as maiores células, quando comparadas às demais células da linhagem germinativa masculina. O núcleo, com cromatina fracamente condensada, ocupa a maior parte do citoplasma e o nucléolo é único e bem evidente. São observadas isoladas no epitélio germinativo do túbulo/lóbulo testicular, envolvidas pelas células de Sertoli (**Fig.1-5B**).

Espermatogônias Diferenciadas A: Devido à proliferação mitótica, são encontradas em cistos, característica que as distingue das espermatogônias indiferenciadas. Morfologicamente similares às espermatogônias indiferenciadas (**Fig.1C-E e 3-5C-D**).

Espermatogônias Diferenciadas B: Apresentam núcleo mais reduzido e com cromatina mais compacta, em relação às espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas A. O formato nuclear apresenta-se elíptico ou esférico e, em geral, um ou dois nucléolos excêntricos são visíveis (**Fig.1F,2C-D,3E,4E e 5E-F**).

Espermatócitos:

Apresentam núcleo esférico e cromatina em diferentes graus de compactação, o que permite a determinação das diferentes fases da divisão meiótica. Como resultado dessas divisões o epitélio germinativo torna-se pseudoestratificado.

– *Leptóteno e Zigóteno:* A cromatina, mais compactada em relação ao estágio anterior, apresenta aspecto uniforme (leptóteno) a granular (zigóteno) (**Fig.1G,2E,3F-G,4E e 5G**).

– *Paquíteno:* Devido à formação do complexo sinaptonêmico e organização da cromatina em cromossomos bivalentes, característicos dessa etapa da meiose, o conteúdo nuclear possui aspecto filamentoso (**Fig.1H-I,2F,3H,4F e 5H**).

– *Diplóteno:* Núcleo fortemente condensado. Pode ser visualizado frequentemente associado a cistos de espermatócitos em metáfase I (**Fig.1J-K,2G,3I,4G,5I-J**).

– Espermatócitos Secundários: Núcleo menor, arredondado e fortemente condensado em relação ao diplóteno. Difícil visualização devido à brevidade desse estágio (**Fig.1L e 3J**). Espermatócitos em metáfase II são comumente encontrados (**Fig.1M,2H,3K,5K**).

Espermátides: Formato nuclear arredondado, volume reduzido em comparação às demais células germinativas e cromatina altamente condensada. Podem ser classificadas de acordo com a dimensão nuclear em espermátides iniciais, intermediárias e finais (**Fig.1N-P,2I-K,3L-N,4H,5L-N**).

Espermatozóides: Encontram-se livres no lúmen dos túbulos/lóbulos seminíferos, resultantes do processo de espermiogênese. O núcleo apresenta o maior grau de compactação dentre as células germinativas. Flagelos podem ser observados (**Fig.1Q-R,2L,3O,4I,5O**).

1.2.2. Caracterização Morfológica das Fases Reprodutivas

Empregando a proposta de Brown-Peterson *et al.* (2011) para a determinação das fases reprodutivas, foram analisados mensalmente e sazonalmente, durante o período de um ano, machos adultos, reprodutivamente ativos, de *Cichla temensis* (**Gráfico 3 e 4**), *Gymnotus* sp.

(Gráfico 5 e 6), *Hoplias malabaricus* (Gráfico 7 e 8), *Sorubim lima* (Gráfico 9 e 10) e *Tanichthys albonubes* (Gráfico 11 e 12). Esses autores classificam quatro fases reprodutivas ao longo do ciclo: Em Regeneração, Desenvolvimento, Apto a Extrusão e Regressão.

Análise microscópica das fases reprodutivas por espécie

I. Grupo derivado

Cichla temensis (Perciformes)

Os espécimes analisados foram coletados de agosto/1996 a julho/1997, totalizando 52 indivíduos.

Em Regeneração

Poucos testículos em Regeneração foram encontrados ao longo do ano, concentrando-se principalmente em fevereiro. Essa fase é caracterizada pela renovação tecidual do epitélio germinativo. Espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas, apoiadas sobre as células de Sertoli, foram observadas (**Fig.6A**).

Desenvolvimento

A fase de Desenvolvimento foi relatada de abril a julho (outono e inverno). O aumento dos cistos de espermatócitos e espermátides no epitélio germinativo, contínuo por todo o órgão, promove a obliteração parcial do lúmen dos lóbulos testiculares. Na subfase Início de Desenvolvimento observaram-se apenas espermatogônias e cistos de espermatócitos (**Fig.6B-G**).

Apto a Extrusão

De acordo com a proposta descrita por Brown-Peterson *et al.* (2011), essa fase pode conter três subfases: Epitélio Germinativo Inicial (EG inicial), caracterizado por epitélio germinativo contínuo em todos os lóbulos; Epitélio Germinativo Intermediário (EG intermediário), caracterizado por apresentar epitélio germinativo contínuo na periferia do testículo e descontínuo próximo aos ductos (**Fig.6H-K**); e Epitélio Germinativo Final (EG final), com epitélio descontínuo por todo o testículo (**Fig.6L-O**).

Para a classificação das gônadas, no presente estudo foram utilizadas as subfases EG intermediário e final. Seguindo a descrição apresentada, EG inicial, sob a análise histológica, pertenceria à fase de Desenvolvimento devido à continuidade do epitélio germinativo por todo o testículo. Conforme os autores do artigo em que essa terminologia foi descrita, essa subfase poderia ser incluída na fase Apto a Extrusão sob uma análise macroscópica prévia do tamanho dos testículos.

Decorrente da análise histológica verificou-se que essa fase foi representativa durante todo o ano, principalmente de setembro a dezembro (primavera e início do verão), e em menor escala de abril a julho (outono e primavera), com EG final significativo em outubro e novembro.

Regressão

Durante essa fase de remodelação estrutural do testículo para um novo ciclo, observam-se grande quantidade de centros melanomacrofágicos e granulócitos no interstício, lúmen e epitélio germinativo. Há espermatozoides residuais no lúmen dos testículos. O interstício torna-se mais espesso, o epitélio germinativo adquire aspecto alveolar e vasos sanguíneos são proeminentes (**Fig.6P-R**). Essa fase foi preponderante em fevereiro (final do verão) e de julho a agosto (inverno).

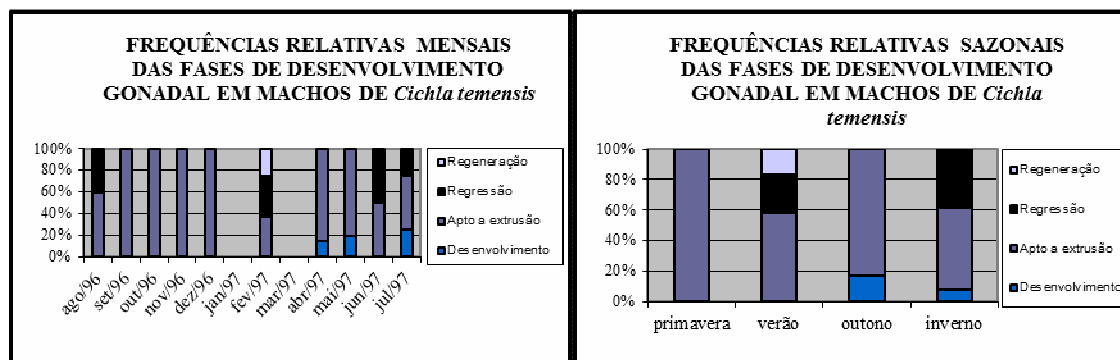


Gráfico 3 e 4. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em machos de *Cichla temensis* (n= 52).

II. Grupos basais (Série Otophysi)

Gymnotus sp. (Gymnotiformes), *Hoplias malabaricus* (Characiformes), *Sorubim lima* (Siluriformes) e *Tanichthys albonubes* (Cypriniformes)

Em Regeneração

As espécies analisadas apresentaram poucas divergências quanto a essa fase.

Espécimes de *Gymnotus* sp., coletados de maio/2006 a abril/2007, totalizando 94 indivíduos, exibiram valores significativos dessa fase principalmente em agosto (inverno). O período de Regeneração foi bem característico para essa espécie de acordo com a terminologia de Brown-Peterson et al. (2011), com proliferação mitótica de espermatogônias, ausência de cistos, lúmen dos túbulos frequentemente inexistente e presença ocasional de espermatozoides residuais (**Fig.7A**).

Em *Hoplias malabaricus*, coletado de fevereiro/97 a janeiro/1998, totalizando 59 indivíduos, essa fase foi preponderante em junho (inverno). Na fase de Regeneração dessa espécie, foram observados adicionalmente às características típicas, alguns poucos cistos de espermatócitos primários (**Fig.8A**). Na classificação empregada, essa característica seria da subfase Início de Desenvolvimento, dentro da fase Desenvolvimento. Divergências de determinação das fases podem estar relacionadas possivelmente à observação de períodos de transição entre as fases.

Em *Sorubim lima*, coletado de março/1995 a fevereiro/1996, totalizando 44 indivíduos, a classificação histológica não apresentou diferenças quanto aos tipos celulares encontrados nessa fase. A disposição das espermatogônias no epitélio, no entanto, diferentemente das demais espécies, foi "cordonal", com o maior espessamento do compartimento intersticial, o alargamento dos túbulos e a obliteração do lúmen dos túbulos seminíferos (**Fig.9A-B**). Os índices de incidência dessa fase ocorreram entre abril e junho (outono e início de inverno).

Em *Tanichthys albonubes*, coletado de setembro/2010 a agosto/2011, totalizando 60 indivíduos, essa fase não foi encontrada ao longo da coleta anual.

Desenvolvimento

Assim como na fase de Regeneração, houve pequenas divergências em algumas espécies.

Gymnotus sp. exibiu essa fase de forma bem característica, com cistos de espermatócitos e espermátides, além de espermatogônias, sempre presentes no epitélio, durante todas as fases (**Fig.7C-F**). Na subfase de Início de Desenvolvimento, o epitélio germinativo continha espermatogônias diferenciadas e indiferenciadas e cistos de espermatócitos (**Fig.7B**). Os maiores índices dessa fase ocorreram em agosto (final do inverno).

Em *Hoplias malabaricus*, como relatado na fase de Regeneração, a distinção entre essa fase e a subfase de Início de Desenvolvimento apresentou alguns entraves e foi feita com base na predominância dos tipos celulares. Nesse caso, quando havia além das espermatogônias, poucos cistos de espermatócitos (isolados) classificou-se a fase como em Regeneração e quando havia muitos cistos, como em Início de Desenvolvimento (**Fig.8B**). A fase de Desenvolvimento, com cistos de espermatócitos e espermátides e lúmen parcialmente obliterado não foi encontrada durante o período de amostragem. A incidência dessa subfase foi relatada em junho (início do inverno).

Em *Sorubim lima*, a subfase de Início de Desenvolvimento foi observada em poucas amostras (**Fig.9C**) e a fase de Desenvolvimento (**Fig.9D-E**) apresentou características semelhantes à classificação empregada, sendo observada em agosto (final do inverno).

Em *Tanichthys albonubes*, essa fase não foi encontrada.

Apto a Extrusão

Essa fase, que determina o período reprodutivo, apresentou características semelhantes em todas as espécies analisadas. Na subfase EG intermediário (**Fig.7G-I,8C,9F-H e 10A**), o epitélio variou de contínuo a descontínuo, contínuo na porção distal (periferia) e contínuo na porção proximal (região próxima ao ducto). Na subfase EG final (**Fig.7J-L,8D-G,9I-L e 10B-C**), grande quantidade de espermatozoides estava presente no lúmen, dilatado pela liberação do componente germinativo na luz tubular, decorrente dos processos de espermatogênese e espermiogênese.

Em *Gymnotus* sp. esse período ocorreu de setembro a março (primavera, verão e início do outono) ; em *Hoplias malabaricus*, ao longo de todo o ano, mas principalmente de agosto a janeiro (final de inverno, primavera e verão); em *Sorubim lima*, de outubro a março (primavera verão e início de outono); e em *Tanichthys albonubes*, foi relatado durante todo o período anual de coleta.

Regressão

Essa fase reprodutiva, assim como a anterior, não apresentou divergências em relação à terminologia empregada. Grande quantidade de centros melanomacrofágicos e granulócitos é observada. O lúmen dos túbulos contém espermatozoides residuais e encontra-se ainda dilatado decorrente da fase anterior. Decorrente da remodelação estrutural do epitélio, vasos sanguíneos tornam-se proeminentes, macrófagos são encontrados no epitélio germinativo, conferindo um aspecto alveolar, além de estarem presente no lúmen e interstício.

Em *Gymnotus* sp., a ocorrência dessa fase foi de abril a julho (outono e inverno) (**Fig.7M-R**); em *Hoplias malabaricus*, teve picos esparsos em fevereiro, abril e julho, mantendo-se relevante, com índices significativos, também durante o período reprodutivo (**Fig.8H-I**); em *Sorubim lima*, em março e abril (outono), com um pico isolado em setembro (**Fig.9M-O**); e em *Tanichthys albonubes*, ocorreu principalmente em junho (início de inverno), mas se manteve relevante ao longo do período anual (**Fig.10D**).

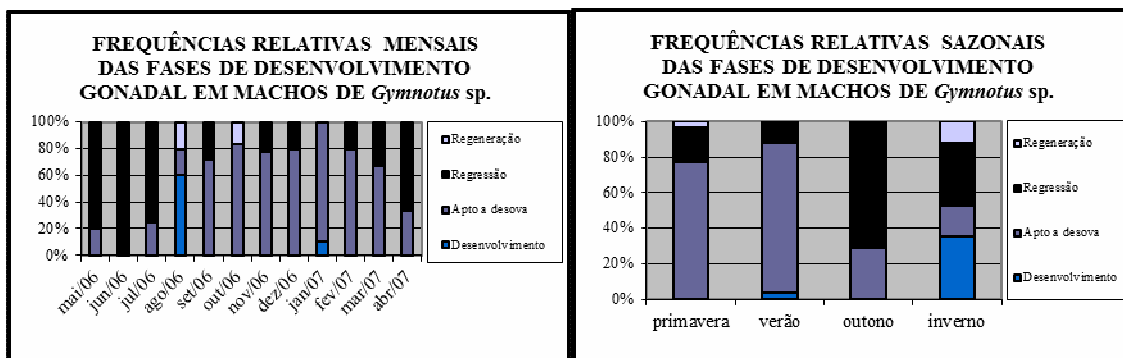


Gráfico 5 e 6. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em machos de *Gymnotus* sp. (n= 94).

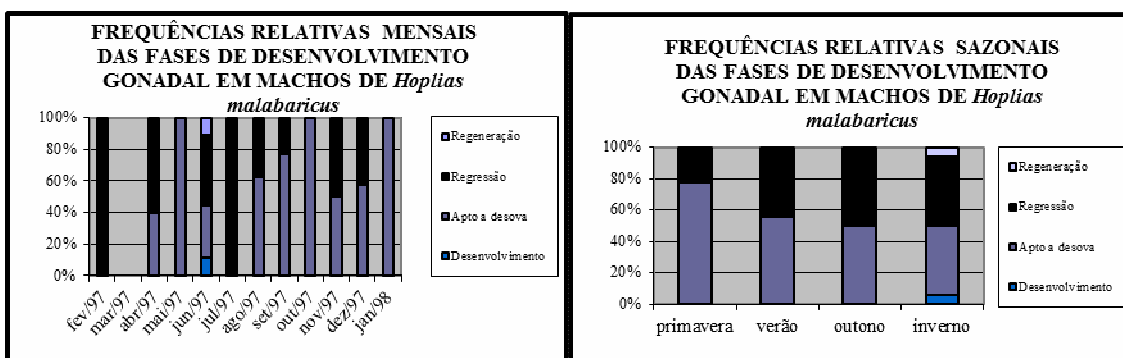


Gráfico 7 e 8. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em machos de *Hoplias malabaricus*. (n= 59).

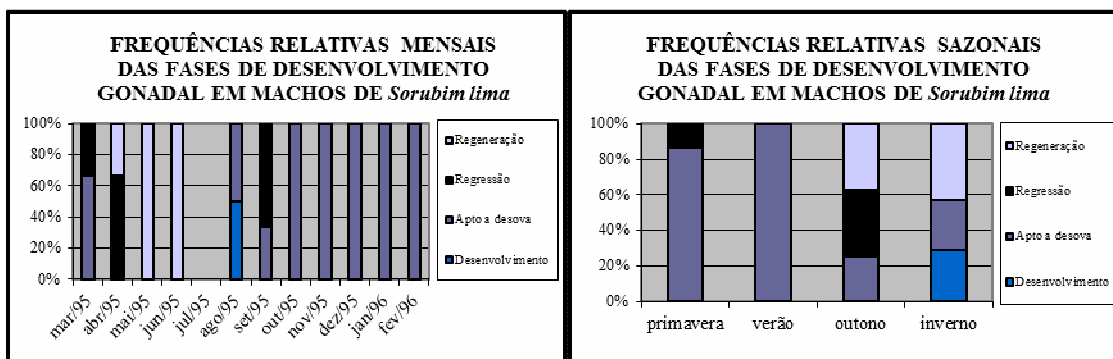


Gráfico 9 e 10. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em machos de *Sorubim lima*. (n= 44).

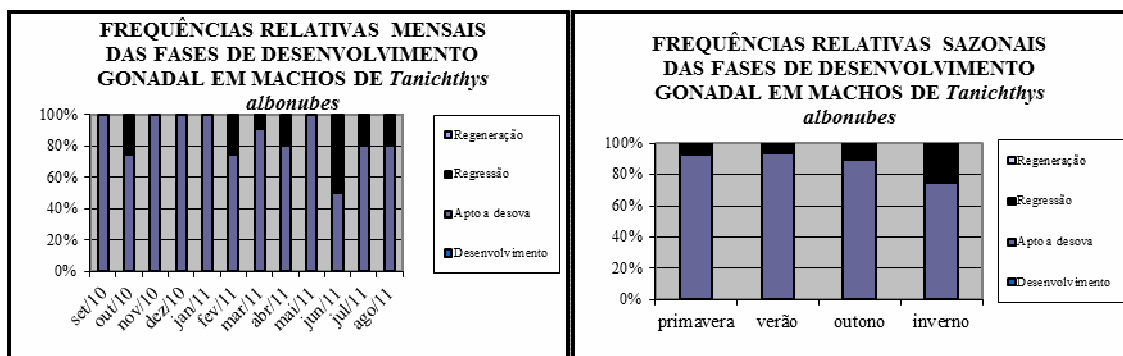


Gráfico 11 e 12. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em machos de *Tanichthys albonubes*. (n= 60).

1.2.3. Proliferação das Células Germinativas e Somáticas em Machos

A proliferação mitótica das células germinativas ocorre durante todas as fases reprodutivas e é a fonte de renovação do componente germinativo do epitélio.

De acordo com observações histológicas é possível verificar que a proliferação das células germinativas e consequentemente das células somáticas, inicia-se ao final da regressão e é mais intensa na classe/fase Regredida ou em Regeneração em comparação com as demais fases do ciclo reprodutivo em *C. temensis* (Fig.11A), *Gymnotus* sp. (Fig.11B), *H. malabaricus* (Fig.11C) e *S. lima* (Fig.11D), ocorrendo em menor escala nas classes/fases subsequentes. Apenas células somáticas e espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas são observadas no epitélio germinativo nessa fase. Alguns cistos de espermátócitos também podem ocorrer.

Tanichthys albonubes não pode ser incluído nessa análise, já que não foram coletados indivíduos em todas as fases reprodutivas durante todo o período anual de coletas, incluindo a fase Regredida/em Regeneração.

1.2.3. Terminologias

A partir da análise microscópica das fases reprodutivas em machos propostas por Brown-Peterson e seus colaboradores (2011), e realizada no presente estudo para as cinco espécies relatadas, foi possível traçar um paralelo com as classes reprodutivas propostas por Grier e colaboradores (Grier & Taylor, 1998; Grier 2002; Lo Nostro *et al.*, 2003.) e relacioná-las à classificação macroscópica proposta por Vazzoler (1996) conforme mostra a **Tabela 1**:

Tabela 1. Correspondência entre as Propostas de Terminologia para as Classes/Fases Reprodutivas em Machos

Vazzoler (1996)	Grier (2002)	Brown-Peterson <i>et al.</i> (2011)
<i>Repouso</i>	<i>Regredida</i>	<i>Regeneração</i>
<i>Em Maturação</i>	<i>Maturação Inicial</i>	<i>Desenvolvimento e Subfase EG inicial*</i>
<i>Maduro</i>	<i>Maturação Intermediária</i>	<i>Subfase EG intermediário*</i>
<i>Maduro</i>	<i>Maturação Final</i>	<i>Subfase EG final*</i>
<i>Semi-Esgotado</i>	<i>Regressão</i>	<i>Regressão</i>

*Subfases inseridas na Fase *Apto a Extrusão*. EG: Epitélio Germinativo.

1.3. Análise Biométrica

O Índice Gonadosomático (IGS) é um parâmetro indicativo do período de reprodução, baseado nas variações biométricas (peso) das gônadas em relação ao corpo.

A análise dos resultados dos valores medianos mensais do IGS foi realizada em *Cichla temensis* (Gráfico 13 e 14), *Gymnotus* sp. (Gráfico 15 e 16), *Hoplias malabaricus* (Gráfico 17 e 18), *Sorubim lima* (Gráfico 19 e 20) e *Tanichthys albonubes* (Gráfico 21 e 22).

Em *Cichla temensis*, os maiores valores das medianas de IGS foram registrados em dois períodos entre setembro e dezembro e, entre abril e julho, em menor escala, variando de 0,01 a 0,37%; em *Gymnotus* sp., os maiores valores foram registrados de novembro a fevereiro, variando de 0,02 a 0,19%; em *Hoplias malabaricus*, de julho a janeiro, com valores de 0,04 a 0,41%; em *Sorubim lima*, de outubro a fevereiro, com valores entre 0,1 e 0,96% (6,78% em apenas um indivíduo); e em *Tanichthys albonubes*, de junho a agosto, com valores entre 3,4 e 21,05%.

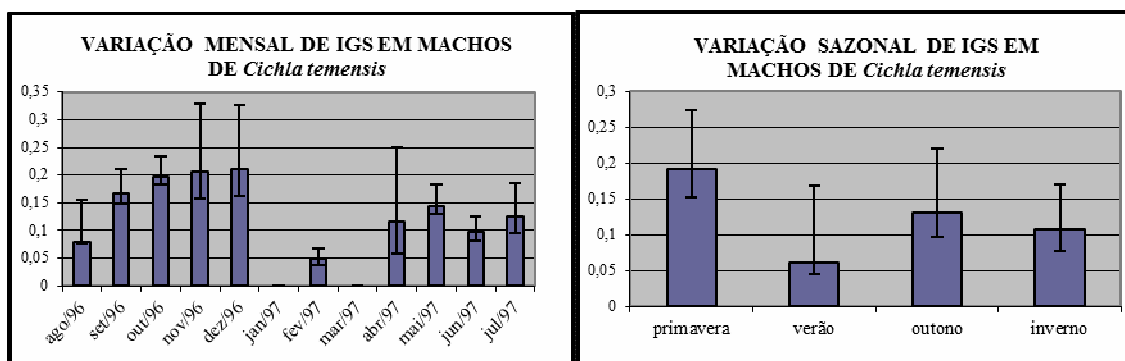


Gráfico 13 e 14. Variação mensal e sazonal de IGS em machos de *Cichla temensis* (n= 52).

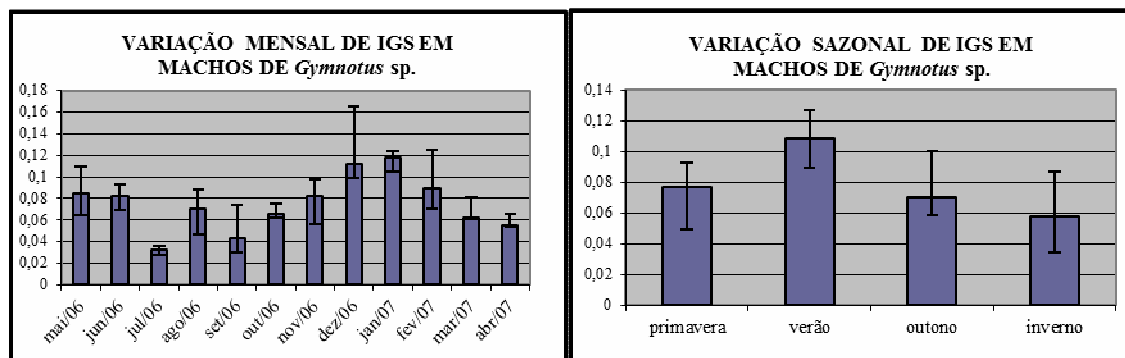


Gráfico 15 e 16. Variação mensal e sazonal de IGS em machos de *Gymnotus* sp. (n= 94).

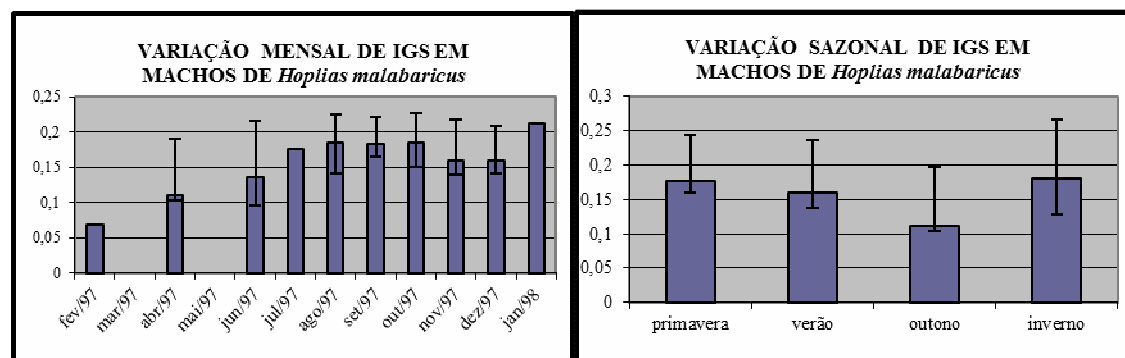


Gráfico 17 e 18. Variação mensal e sazonal de IGS em machos de *Hoplias malabaricus* (n= 59).

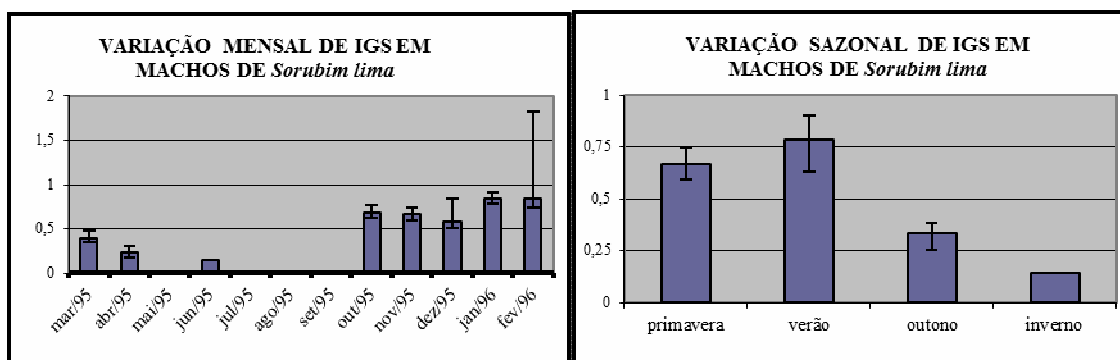


Gráfico 19 e 20. Variação mensal e sazonal de IGS em machos de *Sorubim lima* (n= 44).

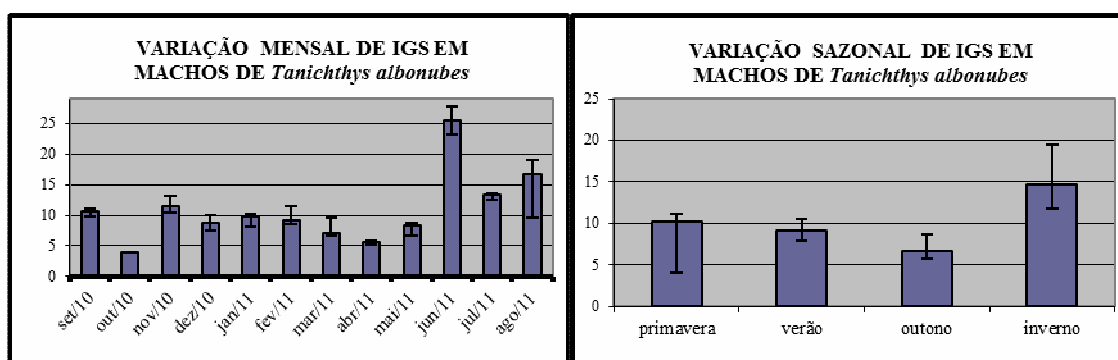


Gráfico 21 e 22. Variação mensal e sazonal de IGS em machos de *Tanichthys albonubes* (n= 60).

1.3. Correlação entre a Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica

Análise Macroscópica e Microscópica

A correlação entre a análise macroscópica e microscópica foi realizada em duas espécies, *Cichla temensis* e *Hoplias malabaricus*. Os resultados da comparação entre as duas classificações são mostradas no gráfico a seguir (Gráfico 23 e 24):

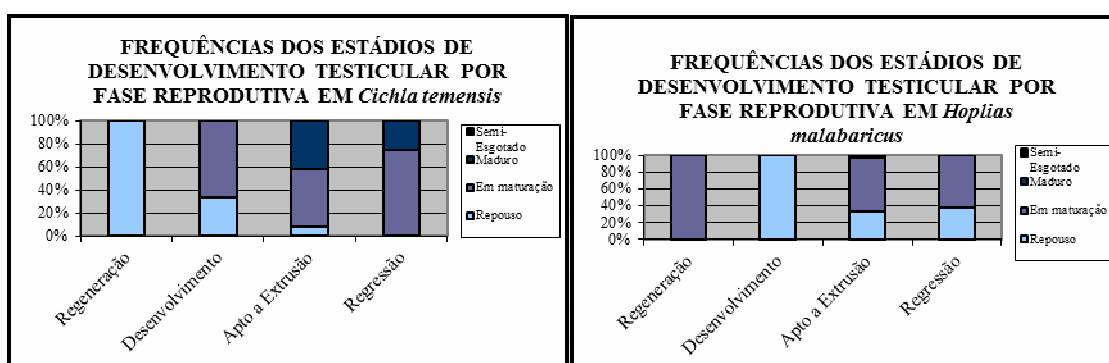


Gráfico 23 e 24. Frequências dos estádios de desenvolvimento testicular por fase reprodutiva em *Cichla temensis* (n= 52) e *Hoplias malabaricus* (n= 59).

Para a comparação, a classificação macroscópica dos estádios de desenvolvimento testicular em Repouso, em Maturação, Maduro e Semi-Esgotado, definidos por Vazzoler (1996), foram considerados equivalentes à classificação microscópica das fases reprodutivas

em Regeneração, em Desenvolvimento, Apto a Extrusão e Regressão, definidos por Brown-Peterson *et al.* (2011), respectivamente.

Conforme os gráficos 23 e 24, em *Cichla temensis*, os dados macro e microscópicos coincidiram no estágio/fase em Repouso/Regeneração (100%), em Maturação/Desenvolvimento (66,67%) e Maduro/Apto a Extrusão (42,5%); e em *Hoplias malabaricus*, apenas no estágio/fase Maduro/Apto a Extrusão (2,77%).

Os baixos valores de correspondência entre as duas classificações indicam a deficiência das análises macroscópicas como parâmetro para identificação adequada do estado reprodutivo em machos.

Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica

A correlação entre a análise macroscópica, microscópica e biométrica em *C. temensis* e *H. malabaricus*, assim como a correlação entre a análise microscópica e biométrica em *Gymnotus* sp., *S. lima* e *T. albonubes*, para a determinação do período reprodutivo foram realizadas. Os resultados da comparação entre as classificações, ao longo do ciclo reprodutivo anual, podem ser verificados nos gráficos das análises macroscópicas (**Gráficos 1 e 2**), microscópicas (**Gráficos 3-12**) e biométricas (**Gráficos 13-22**) e estão resumidos na **Tabela 2**.

Tabela 2. Análise Microscópica X Análise Macroscópica Biométrica do Período Reprodutivo em Machos (em Meses)			
Espécies	Análise Macroscópica	Análise Microscópica	Análise Biométrica
<i>Cichla temensis</i>	Setembro a Dezembro e Abril e Maio	Setembro a Dezembro e Abril e Julho	Setembro a Dezembro e Abril e Julho
<i>Gymnotus</i> sp.		Setembro a Março	Novembro a Fevereiro
<i>Hoplias malabaricus</i>	Junho	Agosto a Janeiro	Julho a Janeiro
<i>Sorubim lima</i>		Outubro a Março	Outubro a Fevereiro
<i>Tanichthys albonubes</i>		Ano Todo	Junho a Agosto

De acordo com os resultados, é possível inferir que dados obtidos pelo IGS, em geral, apresentam resultados da análise histológica. A análise comparativa mostra que o período em que o IGS apresentou valores mais elevados corresponde, ou está inserido, dentro período reprodutivo verificado na análise histológica em todas as espécies. Em *Tanichthys albonubes*, no entanto, apesar da análise biométrica detectar um período em que as gônadas encontram-se aptas a extrusão, ela não reporta com eficiência a análise microscópica, que mostra o período reprodutivo se estendendo por todo o ciclo anual.

A análise macroscópica mostra menor eficiência dentre as análises empregadas.

2. FÊMEAS

2.1. Análise Macroscópica

Assim como em machos, para a caracterização macroscópica foi descrita a estrutura ovariana de uma espécie pertencente a um grupo derivado de teleósteos, *Cichla temensis* (Perciformes), e quatro espécies representantes de grupos basais da série Otophysi (Superordem Ostariophysi), *Gymnotus* sp. (Gymnotiformes), *Hoplias malabaricus* (Characiformes), *Sorubim lima* (Siluriformes) e *Tanichthys albonubes* (Cypriniformes), coletadas mensalmente durante o período de um ano.

As gônadas femininas de todas as espécies analisadas são pares, posicionadas longitudinalmente na região dorsal da cavidade abdominal, presos a parede do corpo pelo mesovário, com a porção caudal das gônadas confluindo em um oviducto único que desemboca no poro urogenital, localizado ventro-caudalmente. Essa disposição dos órgãos reprodutivos femininos apresenta divergências em *Gymnotus* sp., em que a gônada feminina constitui uma estrutura ímpar com a extremidade cefálica bilobada, presas a parede do corpo pelo mesovário, dispostas longitudinalmente na região ventral da cavidade abdominal, de onde partem dois oviductos que confluem em um ducto único para o poro urogenital, localizado na região ventro-cranial.

Os órgãos reprodutivos femininos de todas as espécies analisadas são saculiformes, como ocorre na maioria dos Teleostei, e do tipo cistovariano, com o lúmen contínuo com o oviducto, onde os oócitos maduros são ovulados e, posteriormente, liberados para o meio externo. A partir da cápsula é possível observar projeções em direção ao lúmen ovariano, que correspondem às lamelas ovígeras.

De acordo com a classificação descrita por Vazzoler (1996), os ovários de indivíduos adultos de *Cichla temensis*, representante da ordem Perciformes (grupo derivado), e *Hoplias malabaricus*, representante da ordem Characiformes (grupo basal), coletados mensalmente de agosto/1996 a julho/1997 e de fevereiro/1997 a janeiro/1998, respectivamente, foram analisados macroscopicamente, durante a dissecação, determinando quatro fases reprodutivas, de acordo com a forma, coloração e vascularização dos órgãos (**Gráficos 25 e 26**):

Estádio I - Repouso: Gônadas pequenas, translúcidas, com fraca vascularização, não se observando oócitos a olho nu.

Estádio II - Em maturação: Gônadas maiores, intensamente vascularizadas. A olho nu observam-se oócitos opacos, pequenos e médios.

Estádio III - Maduro: Gônadas túrgidas, ocupando grande parte da cavidade celomática, com oócitos grandes opacos e/ou translúcidos visíveis a olho nu. A vascularização é reduzida ou imperceptível.

Estádio IV – Semi-Esgotado: Gônadas flácidas, relativamente grandes, mas não volumosas, ocupando menos da metade da cavidade celomática. Caracterizadas principalmente pela presença de zonas hemorrágicas. Observam-se poucos oócitos, em estado de absorção, muitas vezes formando grumos esbranquiçados.

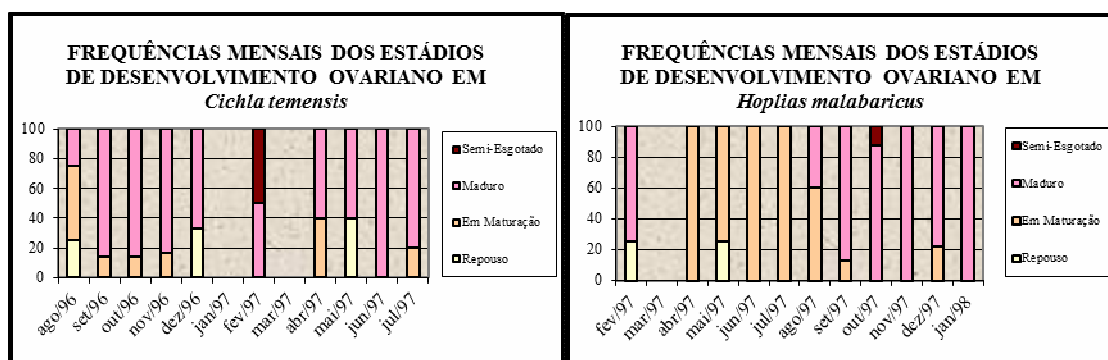


Gráfico 25 e 26. Frequências mensais dos estádios de desenvolvimento ovariano em *Cichla temensis* (n= 51) e *Hoplias malabaricus* (n= 51).

Conforme os gráficos 25 e 26, a análise macroscópica mensal dos ovários evidencia um período reprodutivo que se concentra, sobretudo, de setembro a dezembro, com valores significativos de abril a julho, em *Cichla temensis*, e de setembro a fevereiro em *Hoplias malabaricus*.

Em *Cichla temensis*, o estágio em Maturação ocorre concomitantemente com a ocorrência de fêmeas Maduras, e ovários Semi-esgotados foram observados em fevereiro.

Em *Hoplias malabaricus*, o estágio em Maturação concentrou-se em um período prévio à ocorrência de fêmeas maduras, de abril a agosto, e ovários Semi-Esgotados foram encontrados em outubro, no ápice do período reprodutivo.

2.2. Análise Microscópica

As gônadas femininas são envolvidas por uma cápsula de tecido conjuntivo, a túnica albugínea, a partir da qual se projetam as lamelas ovígeras, que delimitam o lúmen ovariano. O epitélio germinativo das lamelas é constituído por células da linhagem germinativa (oogônias e oócitos em diferentes estágios de maturação) envolvidas por células somáticas (células epiteliais, células pré-foliculares e células foliculares).

No ciclo reprodutivo anual, modificações morfológicas incluem a renovação do epitélio germinativo, permanentemente ativo em fêmeas de peixes, através do processo de foliculogênese, seguida pelo desenvolvimento oocitário até a maturação final, quando o oócito está pronto para ser liberado no lúmen ovariano. Alterações morfológicas e histoquímicas das estruturas celulares são mostradas na **Tabela 3**.

2.2.1. Foliculogênese

A caracterização morfológica das células somáticas, das oogônias indiferenciadas e diferenciadas e dos oócitos profásicos, durante o processo de foliculogênese, foi realizada em fêmeas das cinco espécies de estudo, *Cichla temensis*, *Gymnotus* sp., *Hoplias malabaricus*, *Sorubim lima* e *Tanichthys albonubes*, apresentando semelhança estrutural interespecífica e, portanto aqui caracterizados de forma geral.

Células Somáticas

As células epiteliais, pré-foliculares e foliculares que envolvem as células germinativas durante a foliculogênese, apresentam aspecto pavimentoso e núcleo basofílico.

Células Germinativas

Oogônias Indiferenciadas

As oogônias, primeiras células da linhagem germinativa, são responsáveis pela reposição e estoque do componente germinativo do epitélio. Oogônias indiferenciadas apresentam citoplasma claro, núcleo alongado, cromatina moderadamente condensada e nucléolo discreto. São envolvidas por células epiteliais. Essas oogônias proliferam através de sucessivas mitoses, dando origem a ninhos de células germinativas (**Fig.12-15A**).

Oogônias Diferenciadas

Podem ser distinguidas das oogônias indiferenciadas pelo tamanho, formato e basofilia nuclear. As oogônias diferenciadas são maiores, apresentam núcleo esférico e volumoso, cromatina descompactada, nucléolo bem evidente, citoplasma claro e são envolvidas por células derivadas do epitélio, agora denominadas pré-foliculares.

As oogônias diferenciadas, individualizadas pelas células pré-foliculares, denominadas oogônias do tipo A, podem permanecer quiescentes, isoladas no epitélio germinativo ou proliferar por mitose, dando origem a cistos de oogônias diferenciadas do tipo B, interconectadas por pontes citoplasmáticas, formando grupamentos envolvidos pelas células pré-foliculares. Dessa forma, dentro dos ninhos pode conter diferentes tipos celulares isolados e quiescentes, e/ou organizados em grupos de cistos de desenvolvimento sincrônico. Cada

ninho encontra-se apoiado sobre a membrana basal (**Fig.12B-C,13B-C,14B-C,15B-D e 16B-C**).

A entrada em meiose de oogônias diferenciadas origina oócitos profásicos.

Oócitos Profásicos:

Na prófase I, os oócitos são diferenciados pelos distintos padrões de organização da cromatina em leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno. Conforme a prófase avança, a basofilia nuclear é gradualmente perdida.

- *Oócitos Leptotênicos:* possuem núcleo fortemente basofílico, com um nucléolo conspicuo (**Fig.12D-E,13D,14D,15E-F e 16D**).

- *Oócitos Zigotênicos:* A cromatina nuclear apresenta-se granular, devido ao pareamento de cromossomos homólogos e o início da formação dos complexos sinaptonêmicos (**Fig.12F,13E,14D-E,15G e 16E**).

- *Oócitos Paquitênicos:* Como consequência da formação dos complexos sinaptonêmicos, o conteúdo nuclear apresenta aspecto filamentoso. No paquíteno tardio, os cromossomos posicionam-se próximos ao envelope nuclear, como consequência do desarranjo dos complexos sinaptonêmicos. As células pré-foliculares avançam progressivamente por entre os oócitos, individualizando-os da estrutura cística, denominadas a partir daí, de células foliculares. Dessa forma, o folículo é formado, composto pelo oócito individualizado, envolto pelas células foliculares, apoiadas sobre a membrana basal (**Fig.12G-J,13F-G,14F,15H e 16F**).

- *Oócitos Diplotênicos:* A entrada em diplóteno é marcada pela visualização dos cromossomos bivalentes, decorrente da ausência dos complexos sinaptonêmicos e separação dos cromossomos homólogos. No início da entrada em diplóteno, os oócitos recém-individualizados deixam os ninhos. A síntese e transporte de RNA para o citoplasma é retomada, aumentando progressivamente sua basofilia. O nucléolo torna-se proeminente e, resultante da condensação de rRNA, forma-se um anel basofílico que contorna internamente o envelope nuclear (**Fig.12K-M,13H,14G-H,15I e 16G-H**).

2.2.2. Desenvolvimento Oocitário

A caracterização morfológica das células foliculares e do desenvolvimento oocitário foi realizada em fêmeas das cinco espécies de estudo, *Cichla temensis*, *Gymnotus* sp., *Hoplias malabaricus*, *Sorubim lima* e *Tanichthys albonubes*. Os estágios de desenvolvimento oocitário foram relatados de forma geral, sendo descrita individualmente a ocorrência de divergências

estruturais interespecíficas. A partir dos dados obtidos, foi elaborado um esquema do desenvolvimento oocitário de grupos basais (Série Otophysi) e derivados (Perciformes neotropicais), indicando as divergências e similaridades (**Fig.22**).

Células foliculares

Morfologicamente, as células foliculares apresentaram aspecto pavimentoso durante o crescimento primário em todas as espécies, enquanto as células foliculares de oócitos vitelogênicos variaram entre pavimentosas, cúbicas, colunares e prismáticas. *T. albonubes* apresentou células foliculares pavimentosas; *Gymnotus* sp. e *H. malabaricus*, cúbicas; *C. temensis*, colunares; e *S. lima*, prismáticas. Em *C. temensis*, adicionalmente, observou-se que as células foliculares tornam-se prismáticas em estágios avançados da vitelogênese e, gradativamente mais baixas no pólo animal, próximo à micrópila, em relação ao pólo vegetal.

Quanto à natureza histoquímica, em todas as espécies observou-se a presença de proteína no citoplasma das células foliculares de oócitos em vitelogênese, revelada pela coloração metanil yellow ou pela reação acidófila à eosina. Em *C. temensis*, o citoplasma apresentou polissacarídeos neutros (PAS positivos) e conteúdo proteico sob a forma de grânulos no ápice das células foliculares.

Células Germinativas

Oócitos Pré-Vitelogênicos ou em Crescimento Primário:

Após a formação folicular, o oócito aumenta progressivamente de tamanho e basofilia citoplasmática e o núcleo apresenta numerosos nucléolos dispostos na região periférica. Células oriundas do mesênquima envolvem o folículo, formando o complexo folicular. Organelas citoplasmáticas são formadas nesse estágio e podem acumular-se em uma região do citoplasma, constituindo o corpo de Balbiani, ou encontrar-se dispersas no citoplasma, conferindo-lhe um aspecto fissurado (**Fig.17A-E,18A-B,19A-C,20A-C e 21A-D**). Durante o crescimento primário, a produção da zona radiata internamente à camada de células foliculares coincide com dois eventos, o aparecimento de reentrâncias na região perinuclear e o início do declínio progressivo da basofilia citoplasmática. Nesse estágio, os oócitos encontram-se revestidos sequencialmente pela zona radiata, por uma camada de células foliculares pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal, e pelas células da teca externamente. A zona radiata aumenta progressivamente de espessura, desde sua formação no crescimento primário até o crescimento secundário, adquirindo aspecto estriado (**Fig.17E,18C,19D,20D,21E-G**). Além disso, durante o crescimento primário, inicia-se a formação dos alvéolos corticais a partir da periferia do citoplasma oocitário, que ao longo de

desenvolvimento oocitário aumentam em tamanho e número. Em *Cichla temensis*, pequenas vesículas lipídicas aparecem no citoplasma próximo ao núcleo nesse período. Posteriormente, durante a vitelogênese, essas vesículas se fundem, formando gotas de óleo, que permanecem como estruturas descontínuas (individualizadas) no citoplasma do oócito. No final da vitelogênese observa-se a fusão de algumas gotas de óleo (**Fig.17F-L**).

Variações morfológicas e histoquímicas da zona radiata e dos alvéolos corticais foram detectadas entre as espécies analisadas.

Hoplias malabaricus, no início da formação dos alvéolos corticais, apresenta uma única camada de zona radiata PAS positiva, indicando a presença de polissacarídeos neutros. Conforme avança o crescimento primário, com o acúmulo de alvéolos corticais e início da formação do vitelo, a zona radiata encontra-se composta por duas camadas, sendo a externa mais delgada e PAS positiva em relação à camada interna. Ao longo do período vitelogênico a zona radiata agrega componentes de origem protéica à camada interna, reagindo a partir daí à coloração por metanil yellow (**Fig.19E-H**). Assim como em *H. malabaricus*, *Sorubim lima* (**Fig.20E-H**) e *C. temensis* (**Fig.17F-G**) também exibem zona radiata em dupla camada. Nas demais espécies, apresenta-se como uma monocamada. Em *Gymnotus* sp. (**Fig.18D-G**) e *Tanichthys albonubes* (**Fig.21H-J**), polissacarídeos neutros são detectados no início do crescimento primário e componentes de natureza protéica a partir do estágio de formação dos alvéolos corticais.

O aparecimento dos alvéolos corticais pode ocorrer antes do início da deposição de grânulos de vitelo, como observado em *T. albonubes* (**Fig.21H-J**); concomitante ao início de deposição de vitelo, como em *C. temensis* (**Fig.17F-G**), *Gymnotus* sp. (**Fig.18D-G**) e *H. malabaricus* (**Fig.19E-H**); ou ainda, após o início da deposição de vitelo, como em *S. lima* (**Fig.20E-H**). Em *T. albonubes*, os alvéolos corticais são volumosos e PAS positivos, formando uma camada de aspecto aureolar no entorno, fracamente PAS positiva. Em *C. temensis* e *H. malabaricus*, os alvéolos são pequenos e fortemente PAS positivos. Em *Gymnotus* sp., os alvéolos são volumosos e diferentemente das demais espécies, apresentaram leve reatividade ao PAS. A detecção histoquímica para essa espécie demonstrou a presença de polissacarídeos ácidos, revelados pela reação metacromática com azul de toluidina bórax. Os alvéolos corticais permanecem como estruturas descontínuas ou individualizadas durante a maior parte do desenvolvimento oocitário e, durante a maturação oocitária final, tornam-se contínuos pela fusão de alvéolos adjacentes. Em *S. lima*, os alvéolos corticais são pequenos. A natureza histoquímica não foi definida para essa espécie (**Tabela 3**).

Oócitos Vitelogênicos ou em Crescimento Secundário:

- *Oócitos em vitelogênese inicial*: Grânulos/glóbulos de vitelo começam a preencher o oócito a partir da periferia do oócito.

- *Oócitos vitelogênicos*: Os grânulos/glóbulos de vitelo avançam em direção ao núcleo. Ainda é possível visualizar porções do citoplasma.

- *Oócitos vitelogênicos finais*: Os alvéolos corticais, devido ao grande acúmulo de vitelo (resposta ao corante Metanil Yellow), em tamanho e número, posicionam-se perifericamente no oócito.

No final da vitelogênese, em *Cichla temensis*, algumas gotas de óleo sofrem fusão, mas não formam um único e grande glóbulo de lipídio como em espécies marinhas, permanecendo dispersas entre os glóbulos de vitelo.

Quanto à composição dos grânulos/glóbulos de vitelo, em todas as espécies foi detectado conteúdo protéico, evidenciado pelo corante metanil yellow ou eosina (em *S. lima*) e polissacarídico (PAS positivo), conferindo uma tonalidade alaranjada aos grânulos. Em *C. temensis*, os grânulos apresentam conteúdo inicialmente PAS positivos, exibindo em estágios avançados da vitelogênese estrutura globular, evidenciada histoquimicamente de forma descontínua, com estruturas globulares coradas em amarelo (reativas ao metanil yellow) envoltas por porções do vitelo coradas em magenta (PAS positivo).

Maturação Oocitária Final

Com o avanço da vitelogênese, o núcleo, inicialmente central, migra em direção à micrópila, em forma de funil. A zona radiata aparece côncava na região da micrópila, formando o canal micropilar, obstruído pela célula micropilar (célula folicular modificada) (**Fig.18H-J,19I-J,20I e 21K-N**). Em *C. temensis*, durante a maturação oocitária final, há a fusão parcial dos glóbulos de vitelo, resultante da hidrólise (**Fig.17L**).

Complexo Folicular Pós-Ovulatório

Complexos foliculares pós-ovulatórios, compostos pela teca e pelas células foliculares, são formados com a ruptura do envelope folicular e liberação do oócito maduro (**Fig.17M,18K,19K,20J e 21O**).

Atresia

Observam-se estruturas com aspecto de grumos devido à perda da integridade celular, hipertrofia das células foliculares, liquefação dos grânulos de vitelo e fragmentação da zona radiata e do núcleo (**Fig.18L,19L,20K-L e 21P-Q**). Em *C. temensis*, o citoplasma torna-se claro pela coalescência das gotas de lipídio e do vitelo (**Fig.17N-O**).

Tabela 3. Características morfológicas e histoquímicas de estruturas de oócitos em vitelogênese.

		<i>C. temensis</i>	<i>Gymnotus</i> sp.	<i>H. malabaricus</i>	<i>Sorubim lima</i>	<i>Tanichthys albonubes</i>
Zona Radiata	Estrutura	Monocamada	Monocamada	Dupla camada	Monocamada	Monocamada
	Coloração	PAS e MY	PAS e MY	PAS e MY	PAS e Eosina	PAS e MY
Células Foliculares	Estrutura	Colunares a Prismáticas	Cúbicas	Cúbicas	Prismáticas	Pavimentosas
	Coloração	PAS, MY e Eosina	MY	MY	MY	MY
Alvéolos Corticais	Estrutura	Pequenos	Volumosos	Pequenos	Pequenos	Volumosos, com aspecto aureolar
	Coloração	PAS	Polissacarídeos ácidos e levemente PAS	PAS	-	PAS
Vitelo	Estrutura	Glóbulo	Grânulo	Grânulo	Grânulo	Grânulo
	Coloração	PAS, MY e Eosina	PAS, MY e Eosina	PAS, MY e Eosina	Eosina	PAS, MY e Eosina
Lipídios	Estrutura	Vesículas	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Coloração	-				

Corantes: MY - Metanil Yellow (reativo a proteínas); PAS - Ácido Periódico de Schiff (polissacarídeos neutros); Eosina - Proteínas.

2.2.3. Caracterização Morfológica das Fases Reprodutivas

Empregando a proposta de Brown-Peterson *et al.* (2011) para a determinação das fases reprodutivas, foram analisados mensalmente e sazonalmente, durante o período de um ano, fêmeas adultas, reprodutivamente ativas, de *Cichla temensis* (**Gráfico 27 e 28**), *Gymnotus* sp. (**Gráfico 29 e 30**), *Hoplias malabaricus* (**Gráfico 31 e 32**), *Sorubim lima* (**Gráfico 33 e 34**) e *Tanichthys albonubes* (**Gráfico 35 e 36**). Todas as espécies analisadas exibem oogênese assincrônica e, portanto, oócitos em diferentes estágios de desenvolvimento oocitário em cada fase do ciclo e foram classificadas, assim como em machos, em quatro fases reprodutivas: Em Regeneração, Desenvolvimento, Apto a Desova e Regressão.

Análise microscópica das fases reprodutivas por espécie

I. Grupo Derivado

Cichla temensis (Perciformes)

Os espécimes analisados foram coletados de agosto/1996 a julho/1997, totalizando 51 indivíduos.

Em Regeneração

Ovários em Regeneração foram observados em maio e agosto (outono e inverno). Nessa fase, as lamelas ovígeras contêm oócitos em início de crescimento primário (sem alvéolos corticais) e folículos atrésicos. É visível o aumento da proliferação de células germinativas, com oogônias e oócitos profásicos formando cistos germinativos. Não foram observados oócitos em outros estágios de desenvolvimento nessa fase (**Fig.23A-C**).

Desenvolvimento

A fase de Desenvolvimento manteve-se relevante entre agosto e abril (final do inverno, primavera, verão e outono). As lamelas ovígeras apresentaram epitélio germinativo com grande quantidade de oócitos em crescimento primário e oócitos com alvéolos corticais variáveis em tamanho e em início de vitelogênese (**Fig.23D-F**).

Apto a Desova

Fase detectada durante todo o ano, principalmente de setembro a dezembro (primavera e início do verão) e de abril a julho (outono e inverno). Oócitos em todos os estágios de desenvolvimento podem ser observados, desde ninhos e oócitos em início de crescimento primário até oócitos vitelogênicos finais. Estes são proeminentes, com diâmetro elevado em relação aos demais oócitos, e preenchidos por grande quantidade de vitelo. O longo período reprodutivo e o padrão de desenvolvimento oocitário, com presença de oócitos em diferentes estágios de desenvolvimento, evidenciam a desova parcelada, resultante de oogênese assincrônica (**Fig.23G-I**). A subfase *Desova ativa* foi característica principalmente em junho e julho (inverno) e outubro e novembro (primavera), em que foram observados oócitos com núcleo migrando em direção à micrópila e complexos foliculares pós-ovulatórios, resultantes da liberação de oócitos maduros no lúmen (**Fig.23J-L**).

Regressão

Oócitos vitelogênicos preenchidos por vitelo, em final de desova ativa, são ainda encontrados nessa fase. Como mecanismo de eliminação de oócitos não viáveis ocorre a atresia folicular, observando-se a presença de grande quantidade de macrófagos e vasos sanguíneos proeminentes. Muitos complexos foliculares pós-ovulatórios, também em atresia, foram observados (**Fig.23M-N**). A fase de Regressão foi registrada em setembro e novembro e de junho a agosto (inverno e primavera).

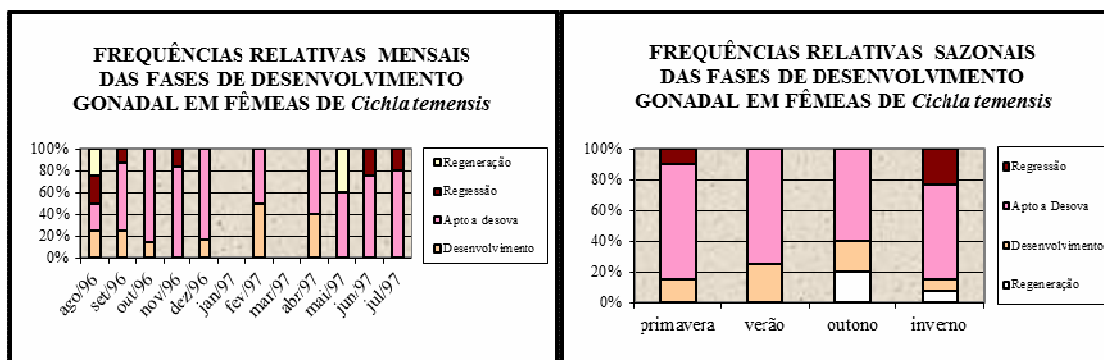


Gráfico 27 e 28. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em fêmeas de *Cichla temensis* (n= 51).

II. Grupos Basais (Série Otophysi)

Gymnotus sp. (Gymnotiformes), *Hoplias malabaricus* (Characiformes), *Sorubim lima* (Siluriformes) e *Tanichthys albonubes* (Cypriniformes)

Em Regeneração

As espécies analisadas apresentaram poucas divergências quanto a essa fase.

Espécimes de *Gymnotus* sp., coletados de maio/2006 a abril/2007, totalizando 76 indivíduos, exibiram índices significativos dessa fase principalmente em agosto e outubro (inverno e primavera) (**Fig.24A-C**). No período de Regeneração, ninhos de oogônias e oócitos e oócitos em crescimento primário estavam presentes na lamela ovígera. Adicionalmente às características descritas para essa fase, grande quantidade de macrófagos, granulócitos e vasos sanguíneos estão presentes.

O período de Regeneração foi bem característico para as demais espécies. Em *H. malabaricus*, coletado de fevereiro/97 a janeiro/1998, totalizando 51 indivíduos, essa fase foi preponderante em fevereiro (final do verão) (**Fig.25A-C**); em *S. lima*, coletado de março/1995 a fevereiro/1996, totalizando 39 indivíduos, os índices de incidência dessa fase ocorreram entre abril e junho (outono e início de inverno), principalmente em maio (**Fig.26A-C**); e em *T. albonubes*, coletado de setembro/2010 a agosto/2011, totalizando 77 indivíduos, essa fase está presente principalmente em janeiro e fevereiro e em maio (verão e outono) (**Fig.27A-C**).

Desenvolvimento

Gymnotus sp. (**Fig.24G-I**), *S. lima* (**Fig.26D-F**) e *T. albonubes* (**Fig.27D-E**) exibiram essa fase e a subfase de Início de Desenvolvimento de forma bem característica, com oócitos em diferentes estágios de desenvolvimento oocitário (oócitos em início de crescimento primário, com alvéolos corticais e em vitelogênese). Na subfase de Início de Desenvolvimento, as lamelas ovígeras continham apenas oócitos em início de crescimento primário e com alvéolos corticais. Os maiores índices dessa fase ocorreram principalmente em

março e abril e junho e agosto (outono e inverno) em *Gymnotus* sp. (Fig.24D-F), e de janeiro a maio (verão e outono) em *T. albonubes* (Fig.27F-G).

Em *H. malabaricus* (Fig.25D-F), essa fase ocorreu de forma característica, porém não foi registrada a subfase Início de Desenvolvimento. A incidência da fase de Desenvolvimento para *H. malabaricus* foi relatada em fevereiro (final do verão) e, para *S. lima*, em junho, setembro e outubro (inverno e primavera).

Apto a Extrusão

Essa fase, que determina o período reprodutivo, apresentou características semelhantes em todas as espécies analisadas (Fig.24J-L,25G-I,26G-I e 27H-J). Numerosos oócitos vitelogênicos foram observados, além de outros estágios do desenvolvimento oocitário e complexos foliculares pós-ovulatórios, resultantes da liberação de oócitos maduros no lúmen. Na subfase Desova ativa, a vesícula germinativa migra em direção ao pólo animal. Em *Gymnotus* sp. (Fig.24M-O), essa fase ocorreu principalmente de outubro a fevereiro (primavera e verão); em *H. malabaricus*, de agosto a fevereiro (final do inverno, primavera e verão) (Fig.25J-L); em *S. lima*, por quase todo o ano, de agosto a abril (final do inverno, primavera, verão e outono) (Fig.26J-L); e em *T. albonubes*, os índices mantiveram-se altos e regulares por todo o ano (Fig.27K-M).

Regressão

Essa fase reprodutiva também não apresentou divergências em relação à descrição terminológica empregada. Folículos e complexos foliculares pós-ovulatórios em atresia, vasos sanguíneos proeminentes, macrófagos e granulócitos são observados. Nessa fase ocorre a reorganização da gônada para o próximo ciclo. Em *Gymnotus* sp., a Regressão foi registrada de maio a setembro (final do outono, inverno e início da primavera) (Fig.24P-R); em *H. malabaricus*, de abril a julho (outono e inverno) (Fig.25M-O); em *S. lima*, em novembro e janeiro (primavera e verão) (Fig.26M-O); e em *T. albonubes*, principalmente em abril (outono) (Fig.27N-P).

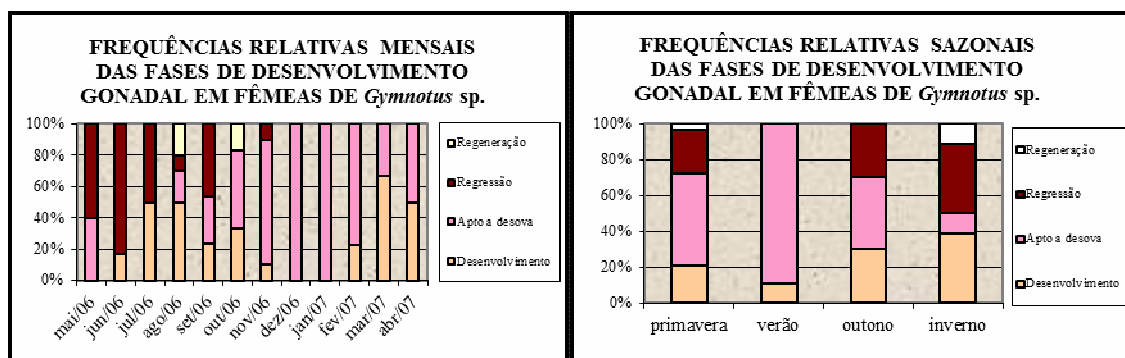


Gráfico 29 e 30. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em fêmeas de *Gymnotus* sp. (n= 76).

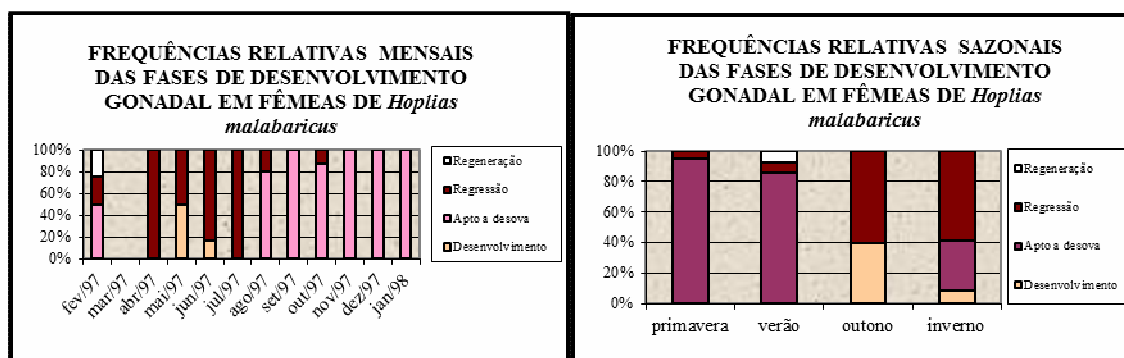


Gráfico 31 e 32. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em fêmeas de *Hoplias malabaricus*. (n= 51).

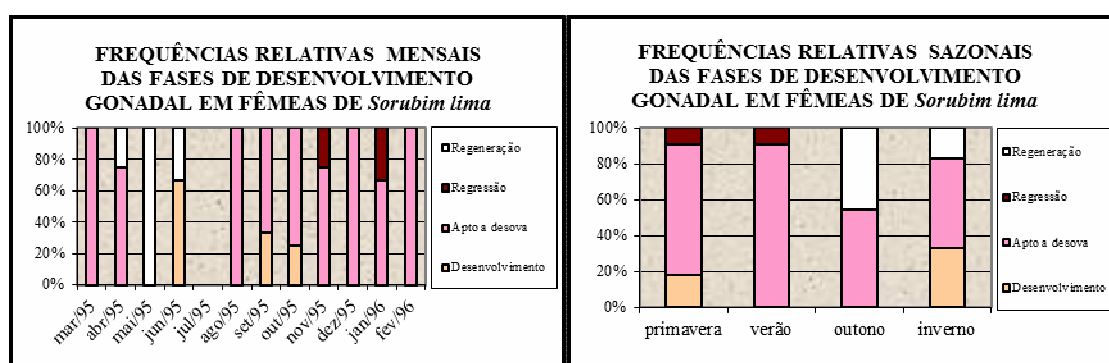


Gráfico 33 e 34. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em fêmeas de *Sorubim lima*. (n= 39).

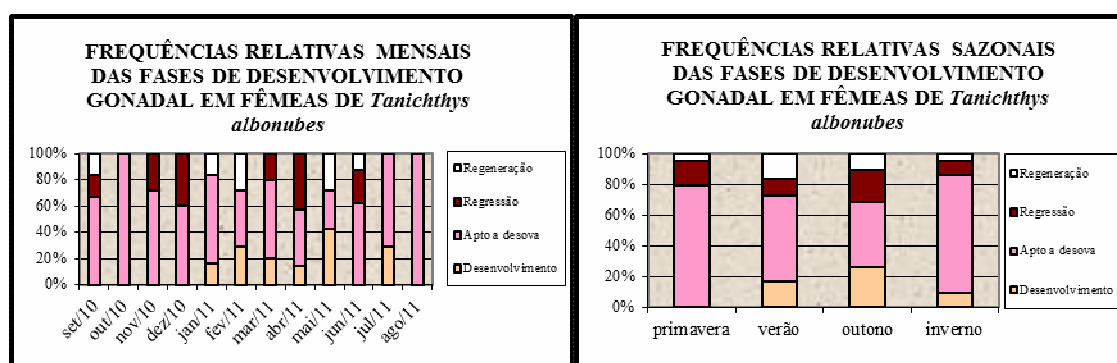


Gráfico 35 e 36. Frequências relativas mensais e sazonais das fases de desenvolvimento gonadal em fêmeas de *Tanichthys albonubes*. (n= 77).

2.2.4. Proliferação das Células Germinativas e Somáticas

Assim como em machos, a proliferação mitótica das células germinativas ocorre durante todas as fases reprodutivas e é a fonte de renovação do componente germinativo do epitélio. Observações histológicas indicam que a proliferação das células germinativas e consequentemente das células somáticas, inicia-se ao final da regressão e é mais intensa na classe/fase Regredida ou em Regeneração em comparação com as demais fases do ciclo reprodutivo em *C. temensis* (Fig.28A-B), *Gymnotus* sp. (Fig.28C-D), *H. malabaricus*

(Fig.28E-F), *S. lima* (Fig.28G-H) e *T. albonubes* (Fig.28I-J), ocorrendo em menor escala nas classes/fases subsequentes. Células somáticas (células epiteliais e pré-foliculares), envolvendo cistos de oogônias e/ou oócitos profásicos são observadas no epitélio germinativos das lamelas ovígeras, além de oócitos em crescimento primário.

2.2.4. Terminologias

A partir da análise microscópica das fases reprodutivas em fêmeas propostas por Brown-Peterson e seus colaboradores (2011), e realizada no presente estudo para as cinco espécies relatadas, foi possível traçar um paralelo com as classes reprodutivas propostas por Grier e colaboradores (Grier & Taylor, 1998; Grier 2002; Lo Nostro *et al.*, 2003.) e relacioná-las à classificação macroscópica proposta por Vazzoler (1996) conforme mostra a **Tabela 4**:

Tabela 4. Correspondência entre as Propostas de Terminologia para as Classes/Fases Reprodutivas em Fêmeas

Vazzoler (1996)	Taylor <i>et al.</i> (1998)	Brown-Peterson <i>et al.</i> (2011)
<i>Repouso</i>	<i>Regredida</i>	<i>Regeneração</i>
<i>Em Maturação</i>	<i>Maturação Inicial</i>	Subfase <i>Início de Desenvolvimento*</i> e em <i>Desenvolvimento</i>
<i>Maduro</i>	<i>Maturação Intermediária</i>	<i>Apto a Desova</i>
<i>Maduro</i>	<i>Maturação Final</i>	Subfase <i>Desova Ativa**</i>
<i>Semi-esgotado</i>	<i>Regressão</i>	<i>Regressão</i>

*Subfase inseridas na Fase em *Desenvolvimento*; **Subfase inserida na Fase *Apto a Desova*.

2.3. Análise Biométrica

Os valores medianos do Índice Gonadossomático (IGS) em fêmeas foram calculados para *Cichla temensis* (Gráfico 37 e 38), *Gymnotus* sp. (Gráfico 39 e 40), *Hoplias malabaricus* (Gráfico 41 e 42), *Sorubim lima* (Gráfico 43 e 44) e *Tanichthys albonubes* (Gráfico 45 e 46).

Em *C. temensis*, os maiores valores das medianas de IGS foram registrados em dois períodos entre outubro e dezembro e, entre junho e julho, variando de 0,06 a 3,68%; em *Gymnotus* sp., os maiores valores foram registrados de novembro a fevereiro, variando de 0,1 a 5,79%; em *H. malabaricus*, de setembro a janeiro, com valores de 0,12 a 7,63%; em *S. lima*, de novembro a fevereiro, com valores entre 0,74 e 21,27%; e em *T. albonubes*, com índices substanciais durante todo o ano (picos em junho, setembro e dezembro), com valores entre 4,35 e 31,58%.

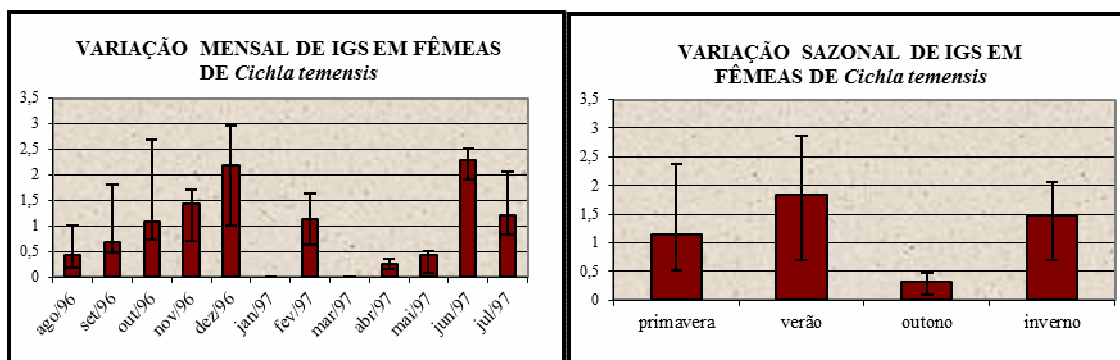


Gráfico 37 e 38. Variação mensal e sazonal de IGS em fêmeas de *Cichla temensis* (n= 51).

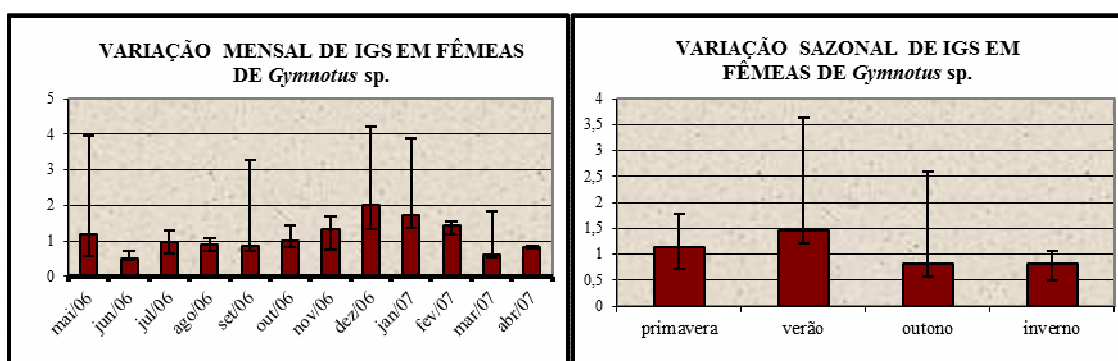


Gráfico 39 e 40. Variação mensal e sazonal de IGS em fêmeas de *Gymnotus sp.* (n= 76).

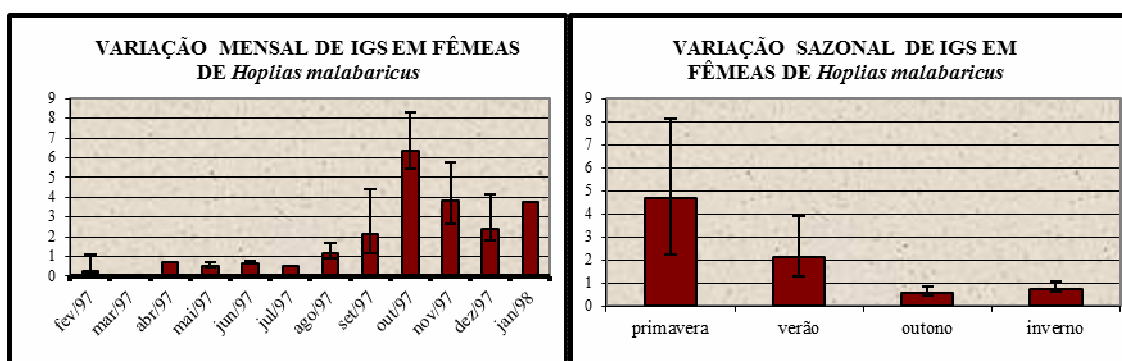


Gráfico 41 e 42. Variação mensal e sazonal de IGS em fêmeas de *Hoplias malabaricus* (n= 51).

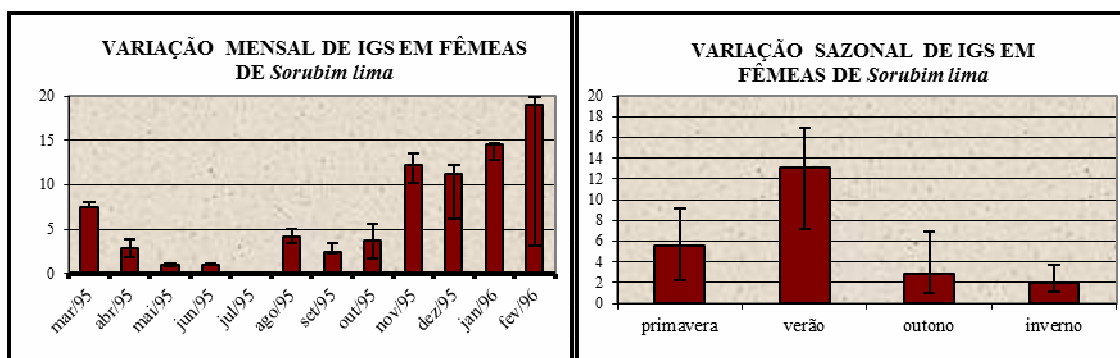


Gráfico 43 e 44. Variação mensal e sazonal de IGS em fêmeas de *Sorubim lima* (n= 39).

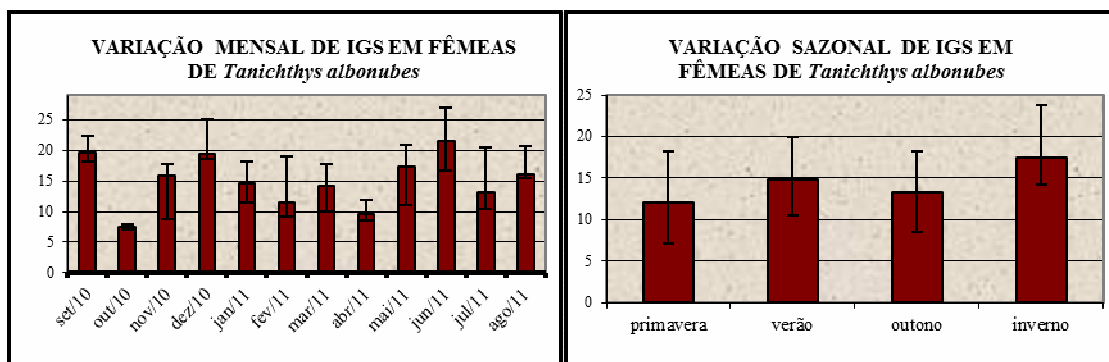


Gráfico 45 e 46. Variação mensal e sazonal de IGS em fêmeas de *Tanichthys albonubes* (n= 77).

2.4. Correlação entre a Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica

Análise Macroscópica e Microscópica

A correlação entre a análise macroscópica e microscópica foi realizada em duas espécies, *Cichla temensis* e *Hoplias malabaricus*. Os resultados da comparação entre as duas classificações são mostradas no gráfico a seguir (Gráfico 47 e 48):

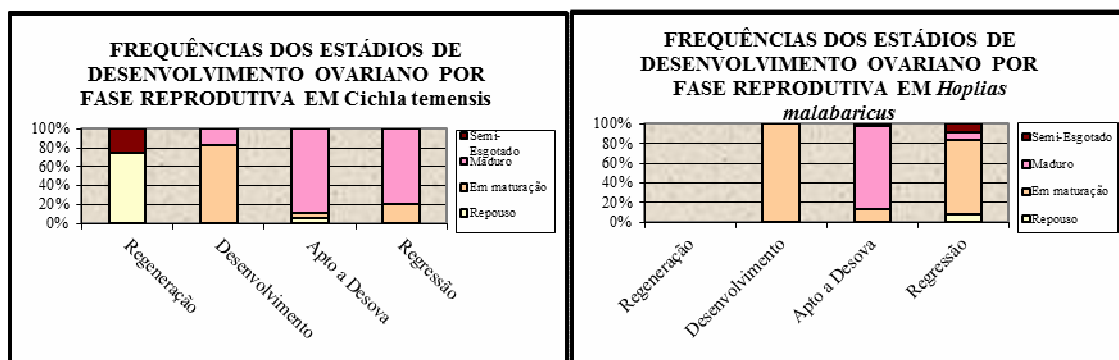


Gráfico 47 e 48. Frequências dos estádios de desenvolvimento ovariano por fase reprodutiva em *Cichla temensis* (n= 51) e *Hoplias malabaricus* (n= 51).

Para a comparação, a classificação macroscópica dos estádios de desenvolvimento ovariano em Repouso, em Maturação, Maduro e Semi-Esgotado, definidos por Vazzoler (1996), foram considerados equivalentes à classificação microscópica das fases reprodutivas em Regeneração, em Desenvolvimento, Apto a Desova e Regressão, definidos por Brown-Peterson *et al.* (2011), respectivamente.

Conforme os gráficos 47 e 48, em *Cichla temensis*, os dados macro e microscópicos coincidiram no estágio/fase em Repouso/Regeneração (75%), em Maturação/Desenvolvimento (83,33%), Maduro/Apto a Extrusão (88,89%), e Semi-esgotado/Regressão (80%); e em *Hoplias malabaricus*, no estágio/fase em Maturação/Desenvolvimento (100%), Maduro/Apto a Extrusão (83,33%), e Semi-esgotado/Regressão (8,33%).

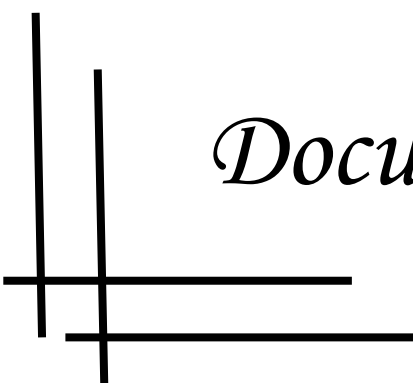
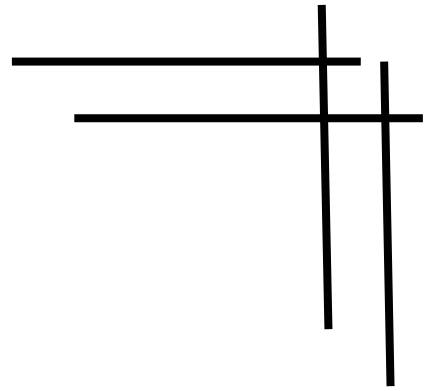
Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica

A correlação entre a análise macroscópica, microscópica e biométrica em *C. temensis* e *H. malabaricus*, assim como a correlação entre a análise microscópica e biométrica em *Gymnotus* sp., *S. lima* e *T. albonubes*, para a determinação do período reprodutivo foram realizadas. Os resultados da comparação entre as classificações, ao longo do ciclo reprodutivo anual, podem ser verificados nos gráficos das análises macroscópicas (**Gráficos 25 e 26**), microscópicas (**Gráficos 27-36**) e biométricas (**Gráficos 37-46**) e estão resumidos na **Tabela 5**.

Tabela 5. Análise Microscópica X Análise Macroscópica e Biométrica do Período Reprodutivo em Fêmeas (em Meses)			
Espécies	Análise Macroscópica	Análise Microscópica	Análise Biométrica
<i>Cichla temensis</i>	Setembro a Dezembro e Abril a Julho	Setembro a Dezembro e Abril a Julho	Outubro a Dezembro e Junho e Julho
<i>Gymnotus</i> sp.	-	Outubro a Fevereiro	Novembro a Fevereiro
<i>Hoplias malabaricus</i>	Setembro a Fevereiro	Agosto a Fevereiro	Setembro a Janeiro
<i>Sorubim lima</i>	-	Ano Todo (Picos de Agosto a Abril)	Novembro a Fevereiro
<i>Tanichthys albonubes</i>	-	Ano Todo	Ano Todo (Picos em Junho, Setembro e Dezembro)

De acordo com os resultados, é possível inferir que, assim como em machos, dados obtidos pelo IGS, em geral, corroboram a análise histológica. A análise comparativa mostra que o período em que o IGS apresentou valores mais elevados corresponde, ou está inserido, dentro período reprodutivo verificado na análise histológica em todas as espécies. Em *S. lima* e *T. albonubes*, no entanto, apesar da análise biométrica detectar um período em que as gônadas encontram-se aptas a extrusão, ela não reporta com eficiência a análise microscópica, que mostra o período reprodutivo se estendendo por todo o ciclo anual.

Quanto à análise macroscópica, em fêmeas quando comparadas aos machos, apresentam menos distorções, possivelmente devido a variações morfológicas mais pronunciadas desses órgãos, o que permite um diagnóstico mais preciso dos estádios de desenvolvimento gonadal no momento da dissecação. Portanto, análises macroscópicas podem servir como parâmetro para identificação adequada do estado reprodutivo em fêmeas.



Documentação Fotográfica

Figura 1. Estágios das Células Germinativas Masculinas em *Cichla temensis*. **A:** Compartimento intersticial (**i**) com células de Leydig (**ly**) e vasos sanguíneos (**vs**). **B:** Espermatogônia indiferenciada (**ai**), maior célula da linhagem germinativa em machos, encontrada isolada no epitélio germinativo. O núcleo, com cromatina fracamente condensada, ocupa a maior parte do citoplasma e o nucléolo é único e conspícuo. **C:** Espermatogônias diferenciadas do tipo A (**a**), encontradas em cistos devido à proliferação mitótica. **D-E:** Espermatogônias em metáfase (**m**), cercadas por células de Sertoli (*). **F:** Espermatogônias diferenciadas do tipo B (**b**), organizados em cistos germinativos. O núcleo é mais reduzido e com cromatina mais compacta, em relação às espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas A. O núcleo elíptico apresenta nucléolos excêntricos. **G:** Espermatócitos em leptóteno/zigóteno (**l/z**), com cromatina granular. **H-I:** Espermatócitos em paquíteno (**p**), com conteúdo nuclear com aspecto filamentoso. **J:** Espermatócitos em Diplóteno (**d**). O núcleo apresenta-se fortemente condensado. **K:** Espermatócitos em Metáfase I (**mI**). **L:** Espermatócitos Secundários (**s**). Núcleo menor, arredondado e mais fortemente condensado em relação ao diplóteno. **M:** Espermatócitos em Metáfase II (**mII**). **N-P:** Espermátides iniciais (**e1**), intermediárias (**e2**) e finais (**e3**). **Q:** Espermatozóides (**z**) sendo liberados do cisto germinativo, como consequência da espermiogênese. **R:** Espermatozóides (**z**) no lúmen do lóbulo seminífero.

Coloração - A-R: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escalas: A-R: 4,17µm.

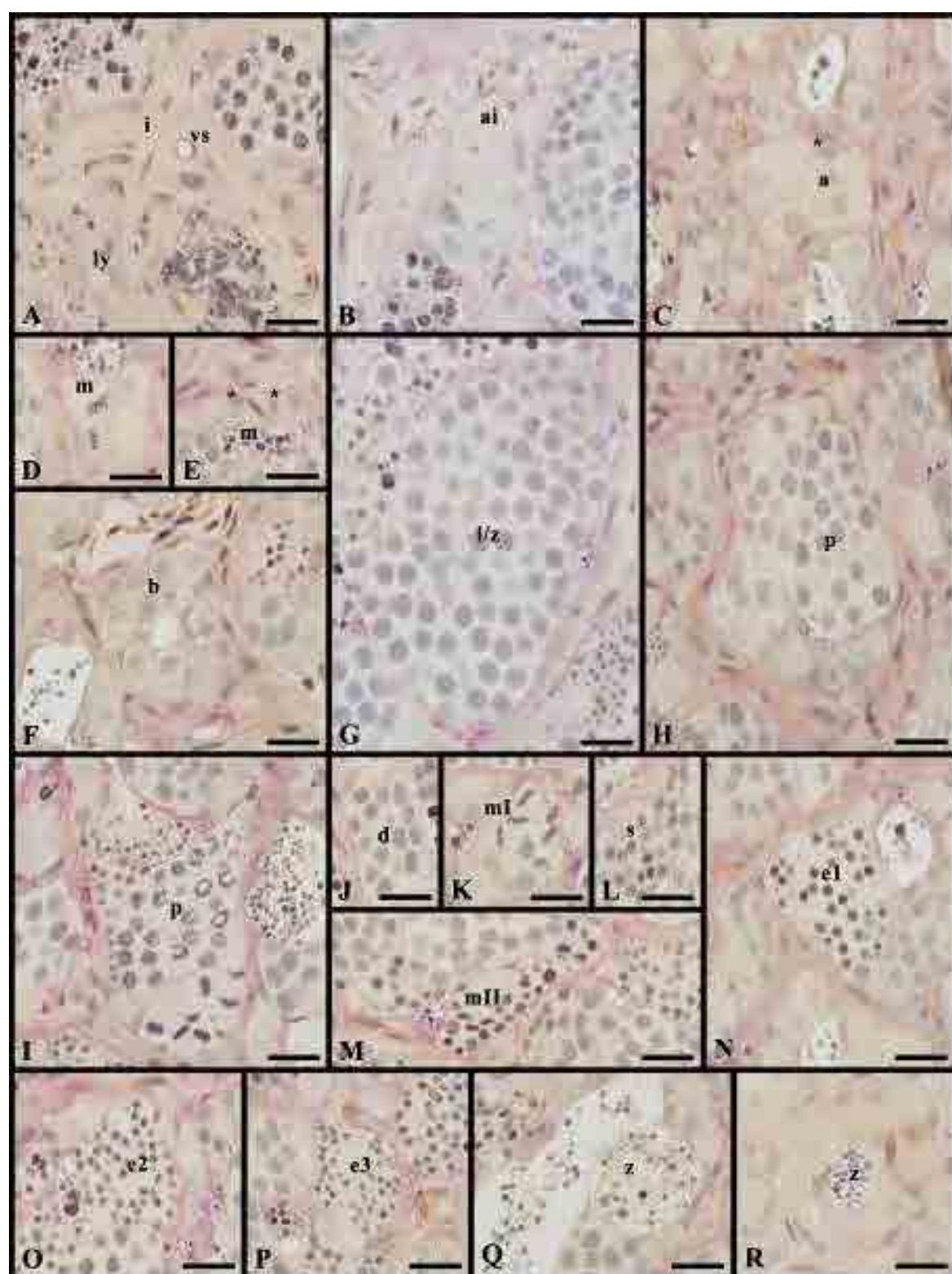


Figura 2. Estágios das Células Germinativas em Masculinas em *Gymnotus* sp. Estágios das Células Germinativas Masculinas em *Cichla temensis*. **A:** Compartimento intersticial com células de Leydig (**ly**) e vasos sanguíneos (**vs**). **B:** Espermatogônia indiferenciada (**ai**), envolta por células de Sertoli (*). **C-D:** Espermatogônias diferenciadas do tipo B (**b**). **E:** Espermatócitos em leptóteno/zigóteno (**l/z**). **F:** Espermatócitos em paquíteno (**p**). **G:** Espermatócitos em Metáfase I (**mI**). **H:** Espermatócitos em Metáfase II (**mII**). **I-K:** Espermátides iniciais (**e1**), intermediárias (**e2**) e finais (**e3**). **L:** Espermatozóides (**z**) no lúmen do túbulo seminífero.

Coloração - A-L: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A-L: 4,17µm.

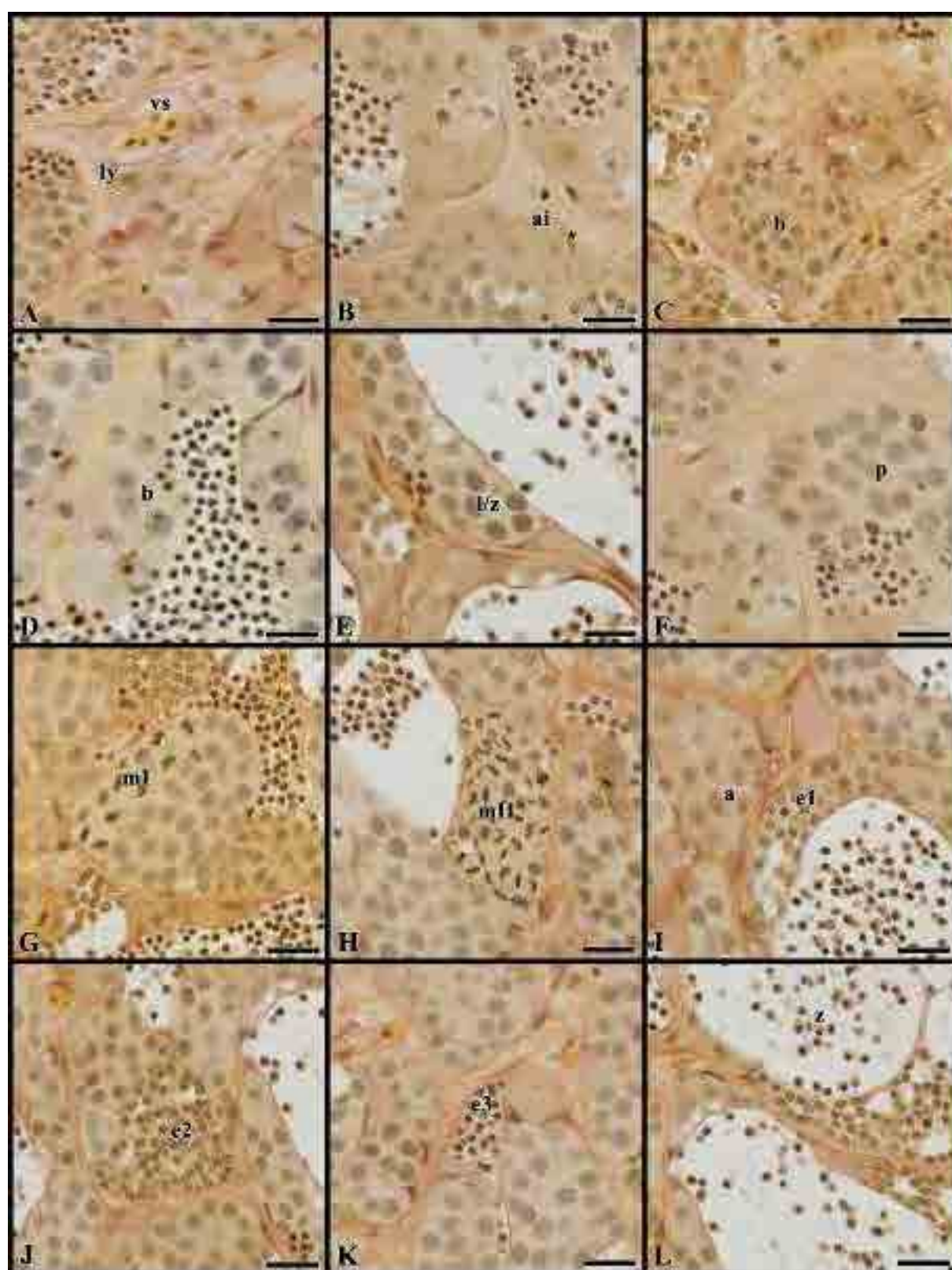


Figura 3. Estágios das Células Germinativas em Masculinas em *Hoplias malabaricus*. **A:** Compartimento intersticial (**i**) com células de Leydig (**ly**). **B:** Espermatogônia indiferenciada (**ai**), envolta por célula de Sertoli (*). **C:** Espermatogônias diferenciadas do tipo A (**a**). **D:** Espermatogônias em metáfase (**m**). **E:** Espermatogônias diferenciadas do tipo B (**b**). **F-G:** Espermatócitos em leptóteno/zigóteno (**l/z**). **H:** Espermatócitos em paquíteno (**p**). **I:** Espermatócitos em Diplóteno (**d**) e em Metáfase I (**mI**). **J:** Espermatócitos Secundários (**s**). **K:** Espermatócitos em Metáfase II (**mII**). **L-N:** Espermátides iniciais (**e1**), intermediárias (**e2**) e finais (**e3**). **O:** Espermatozóides (**z**) no lúmen do túbulo seminífero.

Coloração - A-O: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escalas: A-O: 3,23µm.

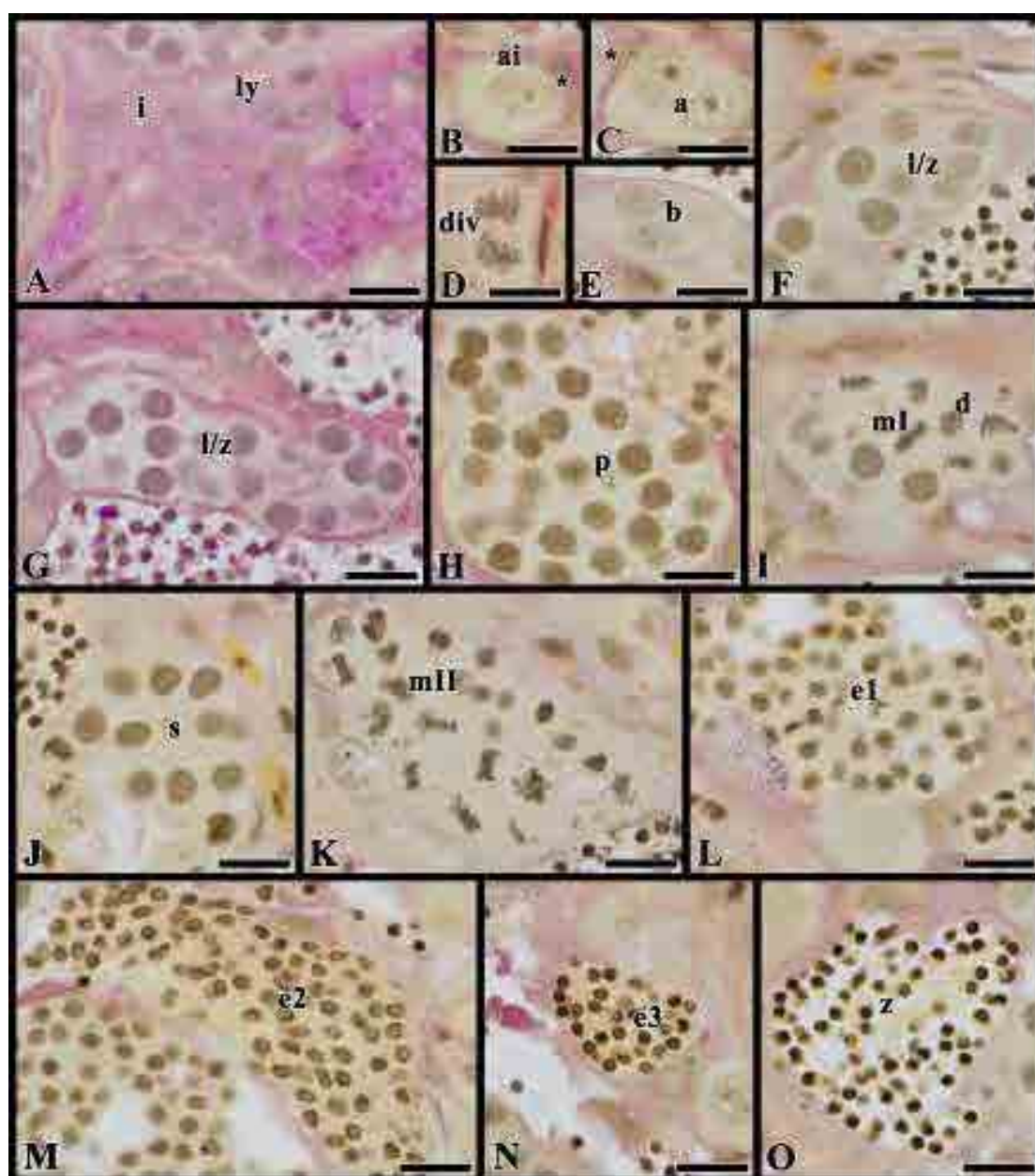


Figura 4. Estágios das Células Germinativas em Masculinas em *Sorubim lima*. **A:** Compartimento intersticial (**i**) com células de Leydig (**ly**) e vasos sanguíneos (**vs**). **B:** Espermatogônia indiferenciada (**ai**), envolta por células de Sertoli (*). Lúmen do túbulo seminífero (**lm**). **C:** Espermatogônias diferenciadas do tipo A (**a**). **D:** Espermatogônia em metáfase (**m**). **E:** Espermatogônias diferenciadas do tipo B (**b**) e Espermatócitos em leptóteno/zigóteno (**l/z**). **F:** Espermatócitos em paquíteno (**p**). **G:** Espermatócitos em Metáfase I (**mI**). **H:** Espermátides iniciais (**e1**), intermediárias (**e2**) e finais (**e3**). **I:** Espermatozóides (**z**) no lúmen do túbulo seminífero.

Coloração - A-I: Azul de Toluidina - Bórax.

Escalas: A-R: 4,17µm.

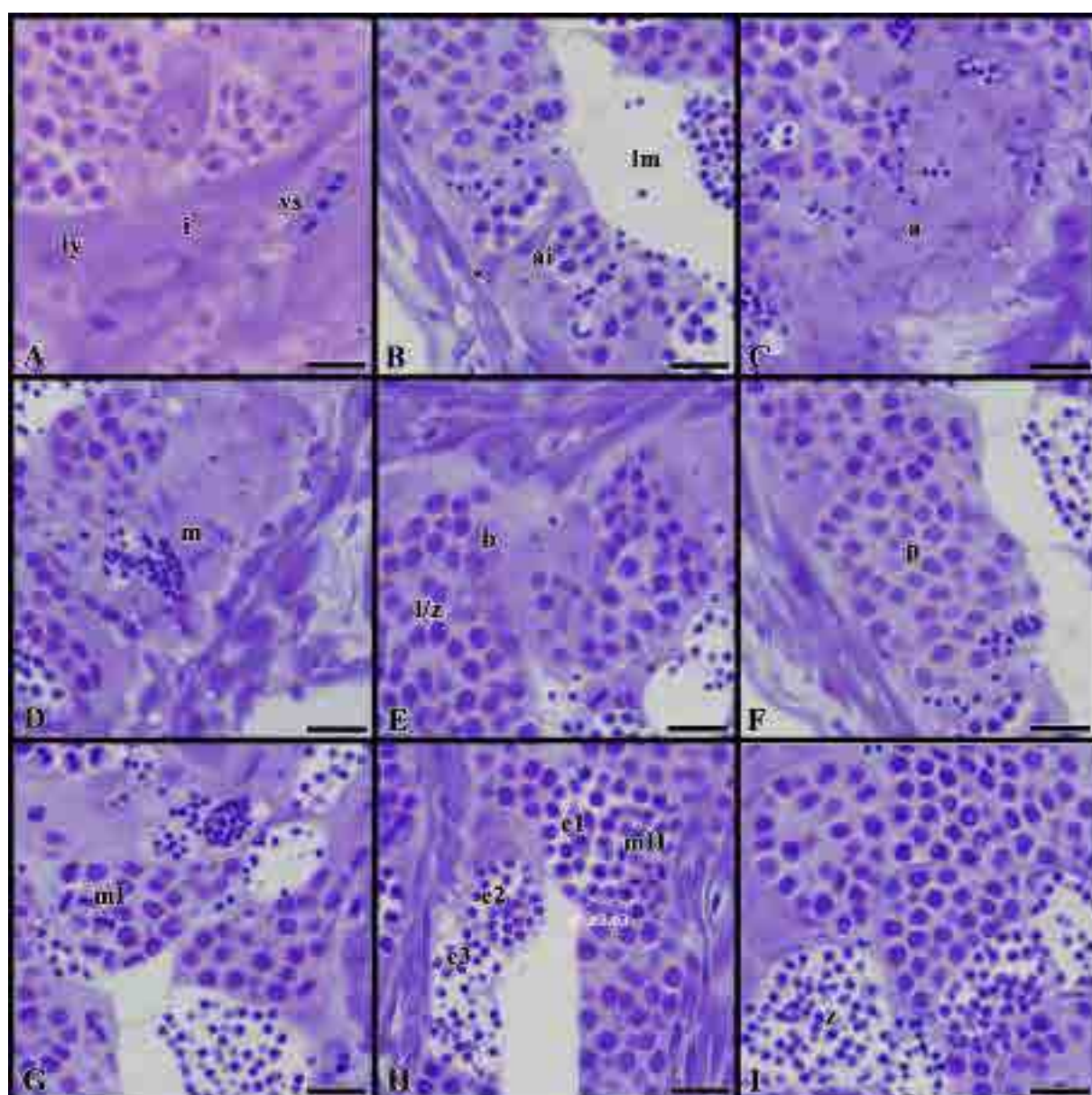


Figura 5. Estágios das Células Germinativas em Masculinas em *Tanichthys albonubes*. **A:** Compartimento intersticial com células de Leydig (**ly**). **B:** Espermatogônia indiferenciada (**ai**). **C:** Espermatogônias diferenciadas do tipo A (**a**), encontradas em cistos devido à proliferação mitótica. **D:** Espermatogônia em metáfase (**m**). **E:** Espermatogônias diferenciadas do tipo B (**b**). **F:** Espermatogônias em diferentes fases de divisão (**div**). **G:** Espermatócitos em leptóteno/zigóteno (**l/z**). **H:** Espermatócitos em paquíteno (**p**). **I:** Espermatócitos em Diplóteno (**d**). **J:** Espermatócitos em Metáfase I (**mI**). **K:** Espermatócitos em Metáfase II (**mII**). **L-N:** Espermátides iniciais (**e1**), intermediárias (**e2**) e finais (**e3**). **O:** Espermatozóides (**z**) no lúmen do túbulo seminífero.

Coloração - A-O: Hematoxilina Férrica/Eosina.

Escalas: A-O: 5µm.

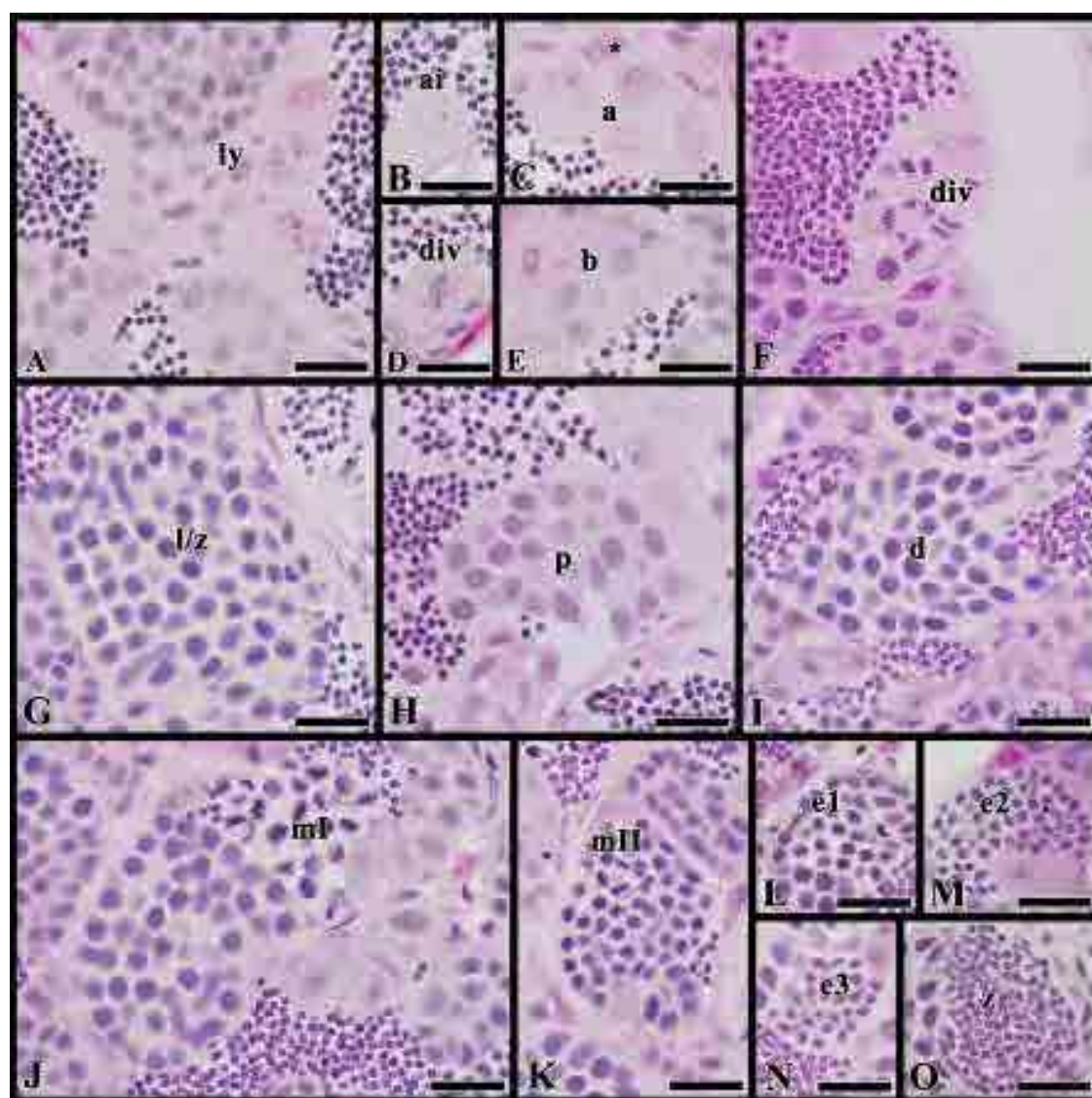


Figura 6. Fases Reprodutivas em Machos de *Cichla temensis*. **A:** Testículos *Em Regeneração*, com epitélio germinativo com espermatogônias indiferenciadas (**ai**) e diferenciadas do tipo A (**a**) e B (**b**), envoltas por células de Sertoli (*). **B-C:** No *Início de Desenvolvimento*, são observados além de espermatogônias (**ai**, **a** e **b**), espermatócitos primários (**sc**). **D-G:** Fase de *Desenvolvimento*. D- Corte longitudinal dos lóbulos, mostrando cistos de espermatócitos (**sc**) e espermatídes (**e**) no epitélio germinativo, contínuo por todo o órgão, promovendo a obliteração parcial do lúmen (**lm**) dos lóbulos testiculares. Além de espermatogônias indiferenciadas (**ai**), diferenciadas do tipo A (**a**) e do tipo B (**b**). E, F e G- Porção medial, distal e proximal ao ducto, respectivamente, com epitélio germinativo contínuo. **H-K:** Subfase Epitélio Germinativo Intermediário (Fase Apto a Extrusão). H – Corte longitudinal dos lóbulos, com espermatozoides (**z**) no lúmen e cistos de espermatócitos (**sc**) e espermatídes (**e**) no compartimento germinativo. I, J e K – Porção medial, distal e proximal ao ducto, respectivamente, com epitélio contínuo na periferia e descontínuo (**seta**) em regiões próximas ao ducto. **sc:** espermatócitos, **e:** espermatídes e **z:** espermatozóides. **L-O:** Subfase Epitélio Germinativo Final (Fase Apto a Extrusão). L- Corte longitudinal dos lóbulos, mostrando grande quantidade de espermatozoides (**z**) no lúmen e epitélio descontínuo (**seta**). M, N e O – Porção medial, distal e proximal ao ducto, com epitélio descontínuo (**seta**) por todo o testículo, espermatozoides (**z**) no lúmen e cistos de espermatócitos (**sc**) e espermatídes (**e**). **P-R:** *Fase de Regressão*. Espermatozóides (**z**) residuais estão presentes no lúmen. Macrófagos (**mac**) e granulócitos (**gr**) aparecem no epitélio, interstício e lúmen dos lóbulos, além de centros melanomacrofágicos (**mel**), relacionados a reestruturação da gônada.

Coloração: A-B e L-R: Hematoxilina Férrica/Eosina; D e H: Azul de Toluidina – Bórax; C, E, F, G, I, J e K: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escalas: A: 14,29µm; B: 16,67µm; C: 14,29µm; D: 14,29µm; E: 14,29µm; F: 16,67µm; G: 16,67µm; H: 28,57; I: 14,29µm; J: 16,67µm; K: 15,38µm; L: 58,82µm; M: 28,57µm; N: 62,5µm; O: 62,5µm; P: 14,29µm; Q: 14,29µm; R: 14,29µm.

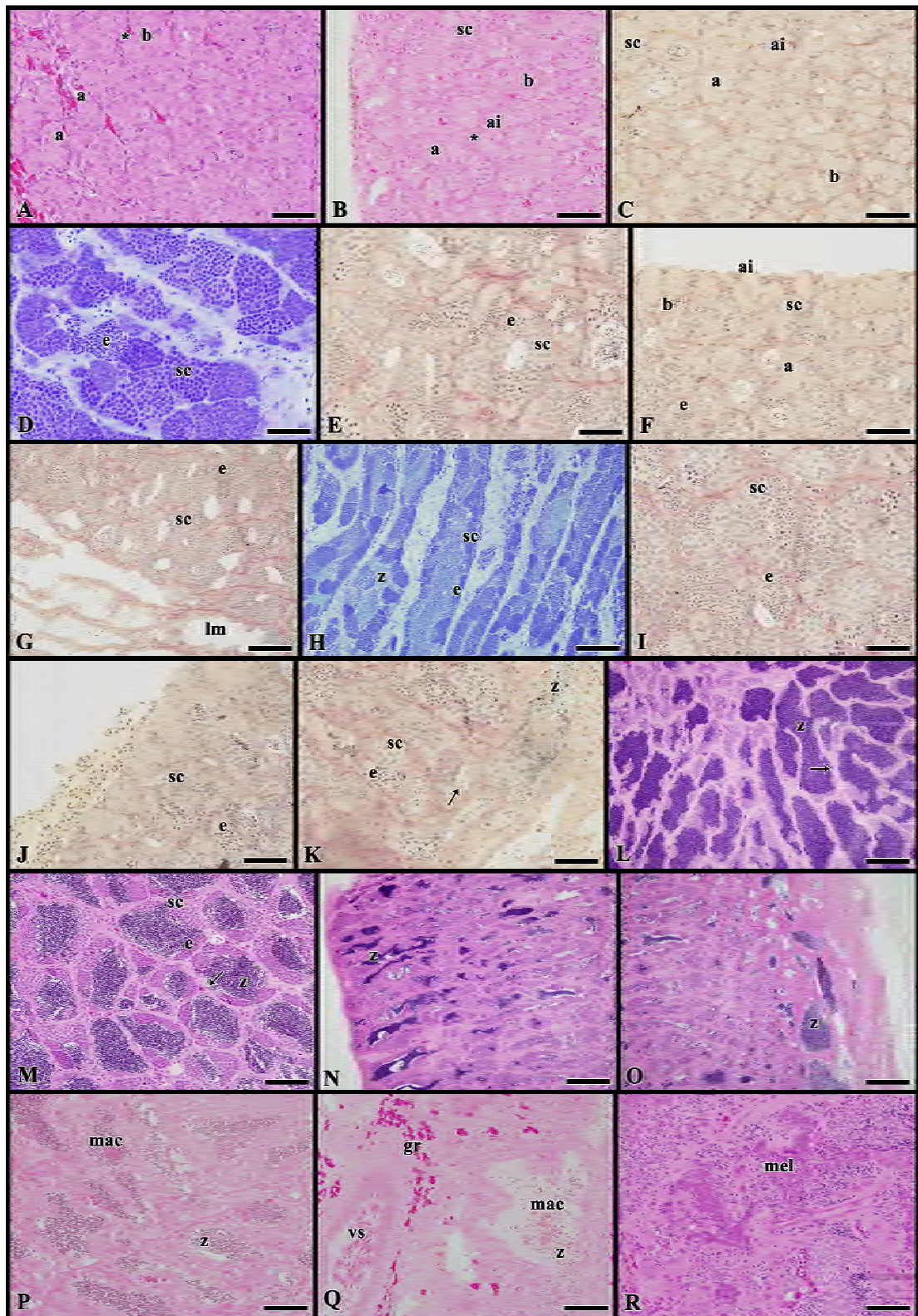


Figura 7. Fases Reprodutivas em Machos de *Gymnotus* sp. **A:** Testículo *Em Regeneração*, com epitélio germinativo com espermatogônias indiferenciadas (**ai**) e diferenciadas do tipo A (**a**) e B (**b**), envoltas por células de Sertoli (*). **B:** *Início de Desenvolvimento*. Espermatogônias (**ai**, **a** e **b**) e espermatócitos primários (**sc**). **C-F:** Fase de *Desenvolvimento*. C - Estrutura Gonadal; D e F – Porção medial; E – Porção distal ao ducto, mostrando cistos de espermatócitos (**sc**) e espermatídes (**e**) no epitélio germinativo contínuo. **G-I:** Subfase Epitélio Germinativo Intermediário (Fase Apto a Extrusão). G, H e I – Porção medial, distal e proximal ao ducto, com espermatozoides (**z**) no lúmen e cistos de espermatócitos (**sc**) e espermatídes (**e**) no compartimento germinativo. **J-L:** Subfase Epitélio Germinativo Final (Fase Apto a Extrusão). J - Estrutura Gonadal. K - Estrutura tubular Anastomosada. L – Epitélio descontínuo. **e:** espermatídes; **sc:** espermatócito; **seta:** epitélio descontínuo; **z:** espermatozóides. **M-R:** *Fase de Regressão*. Espermatozóides (**z**) residuais no lúmen. Macrófagos (**mac**) e granulócitos (**gr**) no epitélio, interstício e lúmen dos lóbulos, além de centros melanomacrofágicos (**mel**).

Coloração: G e N: Hematoxilina Férrica/Eosina; A e C: Azul de Toluidina – Bórax; B, D-F, H-M e O-R: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escalas: A: 33,33µm; B: 57,14µm; C: 333,33µm; D: 66,67µm; E: 66,67µm; F: 66,67µm; G: 50µm; H: 125µm; I: 125µm; J: 444,44µm; K: 57,14µm; L: 50µm; M: 666,67µm; N: 66,67µm; O: 166,67µm; P: 40µm; Q: 40µm; R: 50µm.

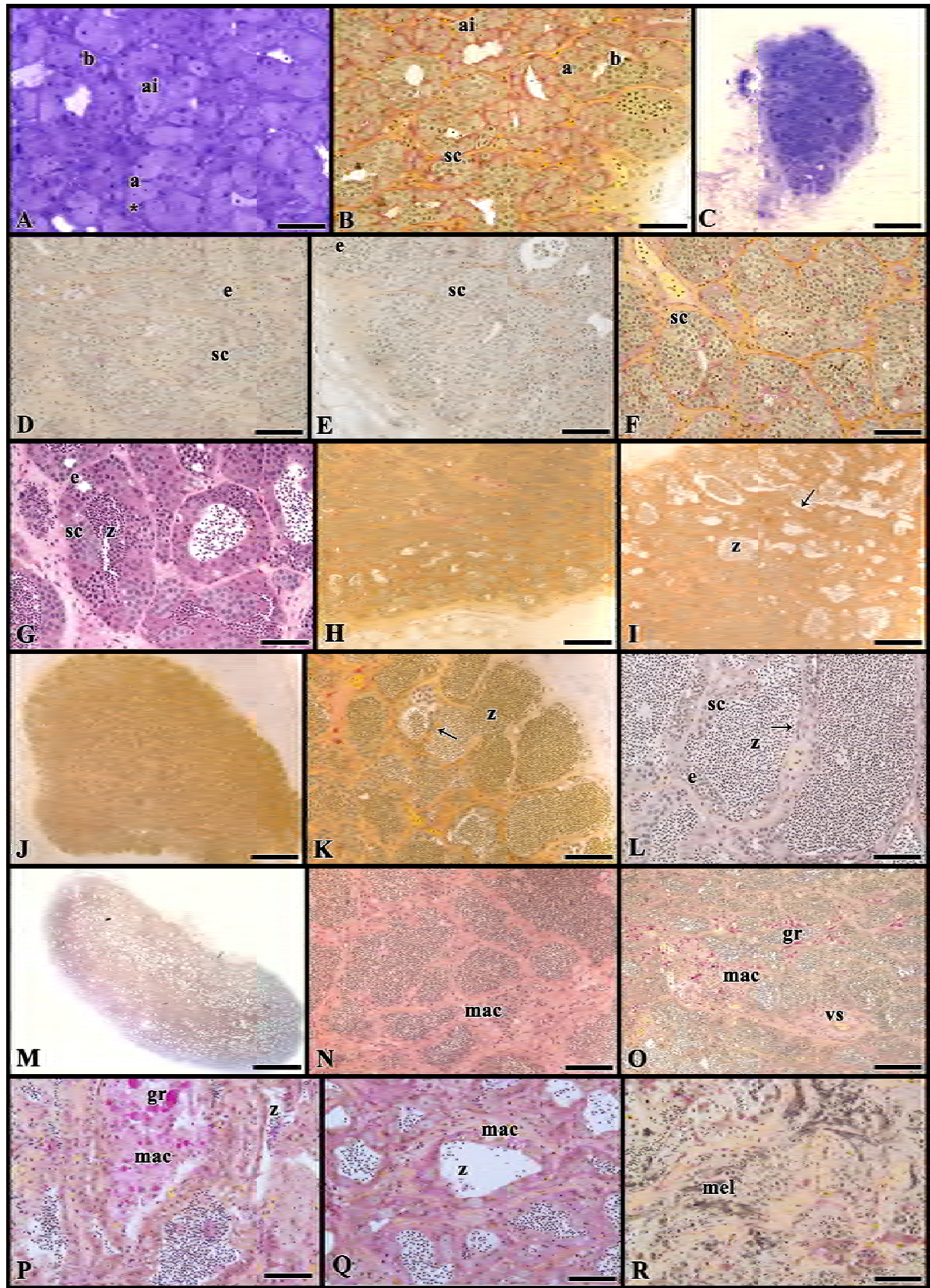


Figura 8. Fases Reprodutivas em Machos de *Hoplias malabaricus*. **A:** Testículo *Em Regeneração*, com epitélio germinativo com espermatogônias indiferenciadas (**ai**) e diferenciadas do tipo A (**a**) e B (**b**), além de alguns poucos cistos de espermatócitos (**sc**), envoltos por células de Sertoli (*). **B:** *Início de Desenvolvimento*. Espermatogônias (**ai**, **a** e **b**) e espermatócitos primários (**sc**). **C:** Subfase Epitélio Germinativo Intermediário (Fase Apto a Extrusão). Cistos de espermatócitos (**sc**) e espermatídes (**e**) e espermatozoides (**z**) no lúmen. **D-G:** Subfase Epitélio Germinativo Final (Fase Apto a Extrusão). Epitélio descontínuo com espermatídes (**e**) e espermatócitos (**sc**). **seta:** epitélio descontínuo; **z:** espermatozóides. **H-I:** *Fase de Regressão*. Espermatozóides (**z**) residuais no lúmen. Presença de macrófagos (**mac**). **Coloração:** A-I: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow. **Escala:** A: 16,67µm; B: 16,67µm; C: 33,33µm; D: 33,33µm; E: 33,33µm; F: 33,33µm; G: 16,67µm; H: 16,67µm; I: 16,67µm.

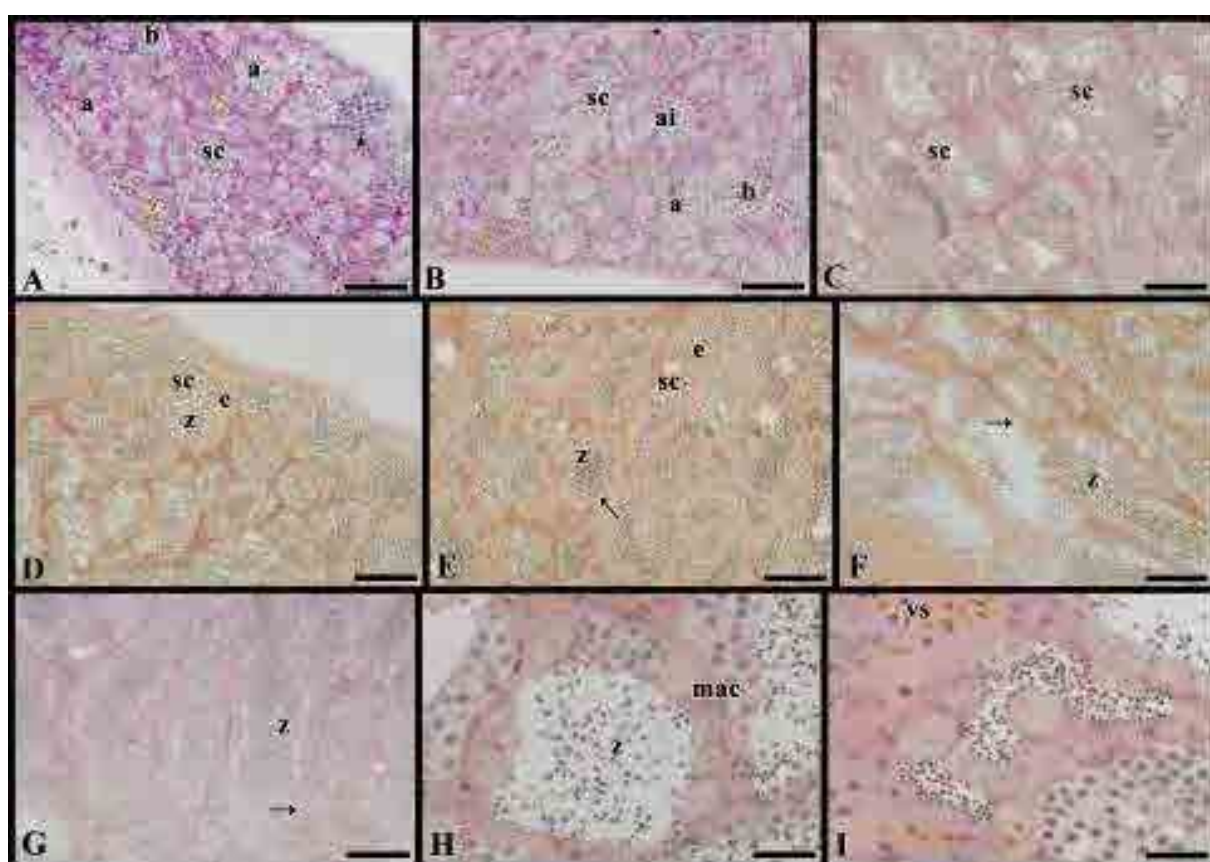


Figura 9. Fases Reprodutivas em Machos de *Sorubim lima*. **A-B:** Testículos *Em Regeneração*, com organização cordonal. Epitélio germinativo com espermatogônias indiferenciadas (**ai**) e diferenciadas do tipo A (**a**) e B (**b**), envoltas por células de Sertoli (*). **C:** *Início de Desenvolvimento*. Além de espermatogônias (**ai**, **a** e **b**), observam-se espermatócitos primários (**sc**). **D-E:** Fase de *Desenvolvimento*. Cistos de espermatócitos (**sc**) e espermátides (**e**) no epitélio germinativo, contínuo por todo o órgão, promovendo a obliteração parcial do lúmen (**lm**). **F-H:** Subfase Epitélio Germinativo Intermediário (Fase Apto a Extrusão). F, G e H – Porção medial, distal e proximal ao ducto, respectivamente, com epitélio contínuo na periferia e descontínuo (**seta**) em regiões próximas ao ducto. **sc:** espermatócitos, **e:** espermátides e **z:** espermatozóides. **I-L:** Subfase Epitélio Germinativo Final (Fase Apto a Extrusão). I- Estrutura Gonadal, mostrando grande quantidade de espermatozoides (**z**) no lúmen. J, K e L – Epitélio descontínuo (**seta**) por todo o testículo, espermatozoides (**z**) no lúmen e cistos de espermatócitos (**sc**) e espermátides (**e**). **M-O:** *Fase de Regressão*. Espermatozóides (**z**) residuais estão presentes no lúmen. Macrófagos (**mac**) e aparecem no interstício (**i**), que se torna mais espesso. Vasos sanguíneos (**vs**) são proeminentes nessa fase.

Coloração: **A-B e I:** Hematoxilina Férrica/Eosina; **C-H e J-O:** Azul de Toluidina – Bórax.

Escalas: **A:** 8,33µm; **B:** 16,67µm; **C:** 16,67µm; **D:** 16,67µm; **E:** 16,67µm; **F:** 33,33µm; **G:** 33,33µm; **H:** 33,33µm; **I:** 62,5µm; **J:** 33,33µm; **K:** 33,33µm; **L:** 33,33µm; **M:** 33,33µm; **N:** 33,33µm; **O:** 33,33µm.

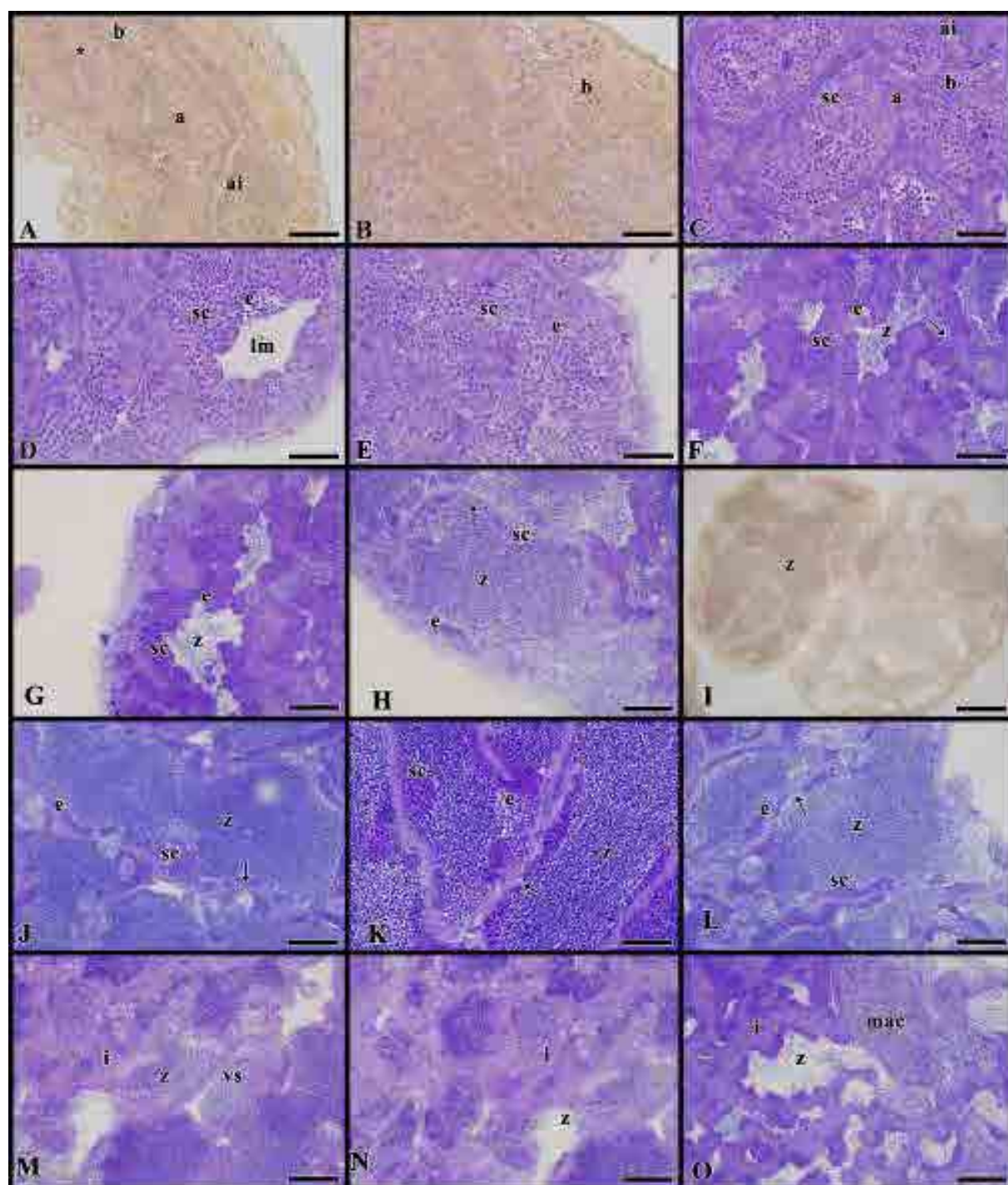


Figura 10. Fases Reprodutivas em Machos de *Tanichthys albonubes*.

A: Subfase Epitélio Germinativo Intermediário (Fase Apto a Extrusão). Espermatozoides (**z**) no lúmen e cistos de espermatócitos (**sc**) e espermatídes (**e**) no compartimento germinativo.

B-C: Subfase Epitélio Germinativo Final (Fase Apto a Extrusão). **e:** espermatídes; **sc:** espermatócitos; **seta:** epitélio descontínuo; **z:** espermatozóides. **D:** *Fase de Regressão*. Macrófagos (**mac**) no epitélio e lúmen dos túbulos.

Coloração: **A-C:** Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow; **D:** Hematoxilina Férrica/Eosina;

Escala: **A:** 17,78µm; **B:** 31,25µm; **C:** 27,78µm; **D:** 14,71µm.

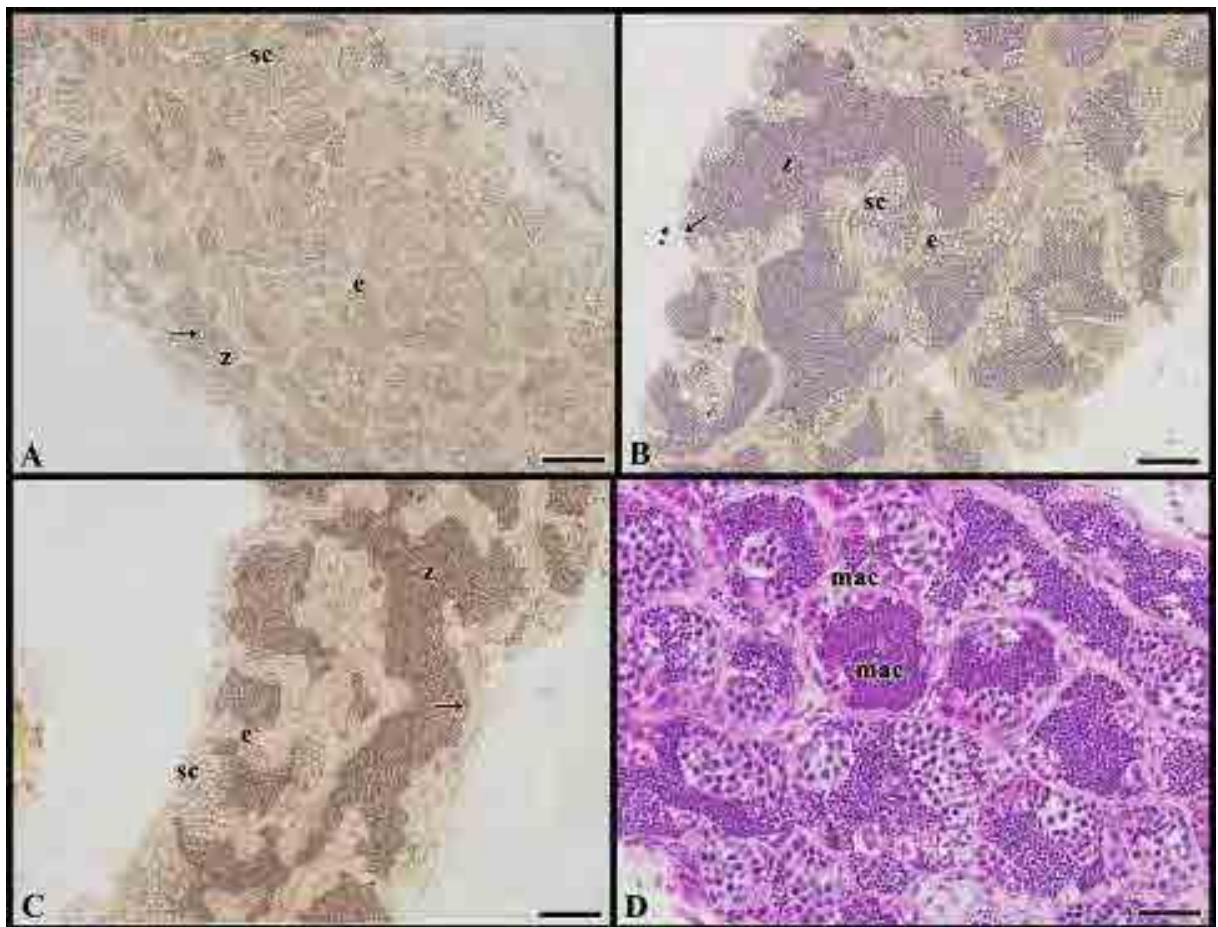


Figura 11. Proliferação das Células Germinativas em Machos. **A:** *Cichla temensis*; **B:** *Gymnotus* sp.; **C:** *Hoplias malabaricus*; e **D:** *Sorubim lima* na fase de *Regeneração*. Células de Sertoli (*) e espermatogônias indiferenciadas (**a**) e diferenciadas A (**a**) e B (**b**) são observadas no epitélio germinativo nessa fase. Alguns cistos de espermatócitos (**sc**) também podem ocorrer.

Coloração: **A** e **D:** Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow; **B:** Azul de Toluidina – Bórax; **C:** Hematoxilina Férrica/Eosina;

Escala: **A:** 9,1µm; **B:** 20µm; **C:** 3,33µm; **D:** 9,52µm.

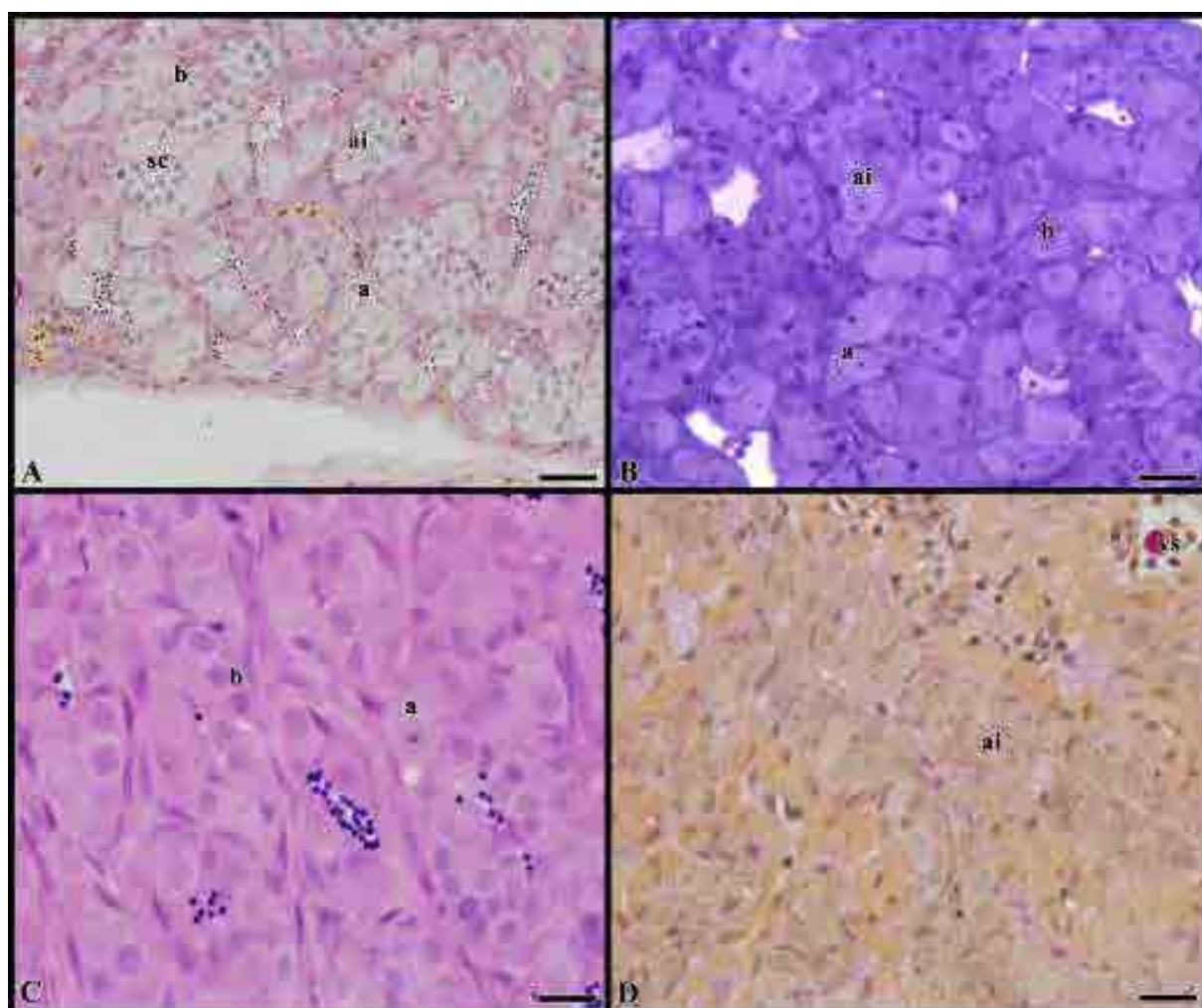


Figura 12. Folliculogênese em Fêmeas de *Cichla temensis*. **A:** Oogônias indiferenciadas (**gi**) apresentam citoplasma claro, cromatina moderadamente condensada e nucléolo discreto. São envolvidas por células epiteliais (**ce**), apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). Essas oogônias proliferam através de sucessivas mitoses no epitélio germinativo (**eg**), dando origem a ninhos de células germinativas. **B:** Oogônias diferenciadas (**gd**) são maiores, apresentam núcleo esférico e volumoso, cromatina descompactada, nucléolo bem evidente, citoplasma claro e são envolvidas por células, agora denominadas pré-foliculares (**pf**). **C:** A individualização pelas células pré-foliculares origina as oogônias do tipo A, que podem permanecer quiescentes, isoladas no epitélio germinativo ou proliferar por mitose, dando origem a cistos de oogônias diferenciadas do tipo B, a partir da qual tem início a meiose dentro de cistos de desenvolvimento sincrônico. **eg:** epitélio germinativo; **mb:** membrana basal; **met:** metáfase; **pf:** células pré-foliculares. **D-E:** A entrada em meiose origina oócitos profásicos, diferenciados pelos distintos padrões de organização da cromatina. Oócitos Leptotênicos (**lept**) possuem núcleo fortemente basofílico, com um nucléolo conspícuo. **gd:** oogônia diferenciada do tipo A; **mb:** membrana basal; **pf:** células pré-foliculares. **F:** Em Oócitos Zigotênicos (**zig**), a cromatina nuclear apresenta-se granular, devido ao pareamento de cromossomos homólogos e o início da formação dos complexos sinaptonêmicos. **mb:** membrana basal; **pf:** células pré-foliculares. **G-H:** Em Oócitos Paquítenicos Iniciais (**paq'**), como consequência da formação dos complexos sinaptonêmicos, o conteúdo nuclear apresenta aspecto filamentosos. **mb:** membrana basal; **pf:** células pré-foliculares. **I-J:** No paquíteno tardio (**paq''**), os cromossomos posicionam-se próximos ao envelope nuclear, como consequência do desarranjo dos complexos sinaptonêmicos. As células pré-foliculares avançam progressivamente por entre os oócitos, individualizando-os da estrutura cística, denominadas a partir daí, de células foliculares. Dessa forma, o folículo é formado, composto pelo oócito individualizado, envolto pelas células foliculares (**f**), apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). **K-M:** A entrada em diplóteno (**dipl**) é marcada pela visualização dos cromossomos bivalentes, decorrente da ausência dos complexos sinaptonêmicos e separação dos cromossomos homólogos. A síntese e transporte de RNA para o citoplasma é retomada, aumentando progressivamente sua basofilia. Resultante da condensação de rRNA, forma-se um anel basofílico (**ab**) que contorna internamente o envelope nuclear. **eg:** epitélio germinativo; **f:** células foliculares; **mb:** membrana basal.

Coloração: A -M: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escalas: A-M: 3,13µm.

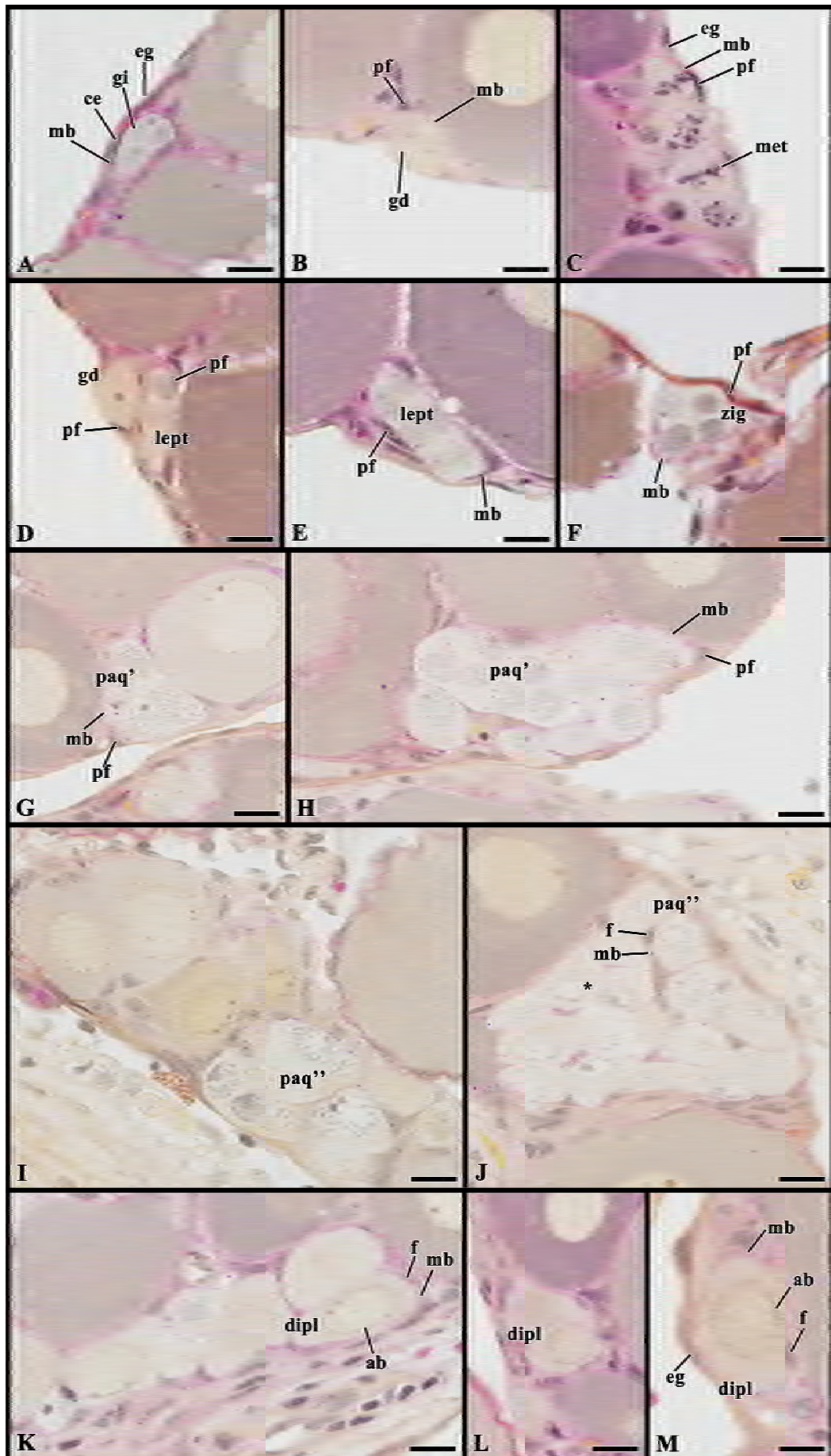


Figura 13. Foliculogênese em Fêmeas de *Gymnotus* sp. **A:** Oogônias indiferenciadas (**gi**), envolvidas por células epiteliais (**ce**). **B-C:** Oogônias diferenciadas (**gd**), envolvidas por células pré-foliculares (**pf**). **D:** Oócitos Leptotênicos (**lept**). **mb:** membrana basal; **pf:** células pré-foliculares. **E:** Oócitos Zigotênicos (**zig**). **gd:** Oogônia diferenciada; **mb:** membrana basal; **pf:** células pré-foliculares. **F-G:** Oócitos Paquitênicos. **pf:** células pré-foliculares. **H:** Diplóteno (**dipl**). **ab:** anel basofílico.

Coloração: A -H: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A-H: 4,55µm.

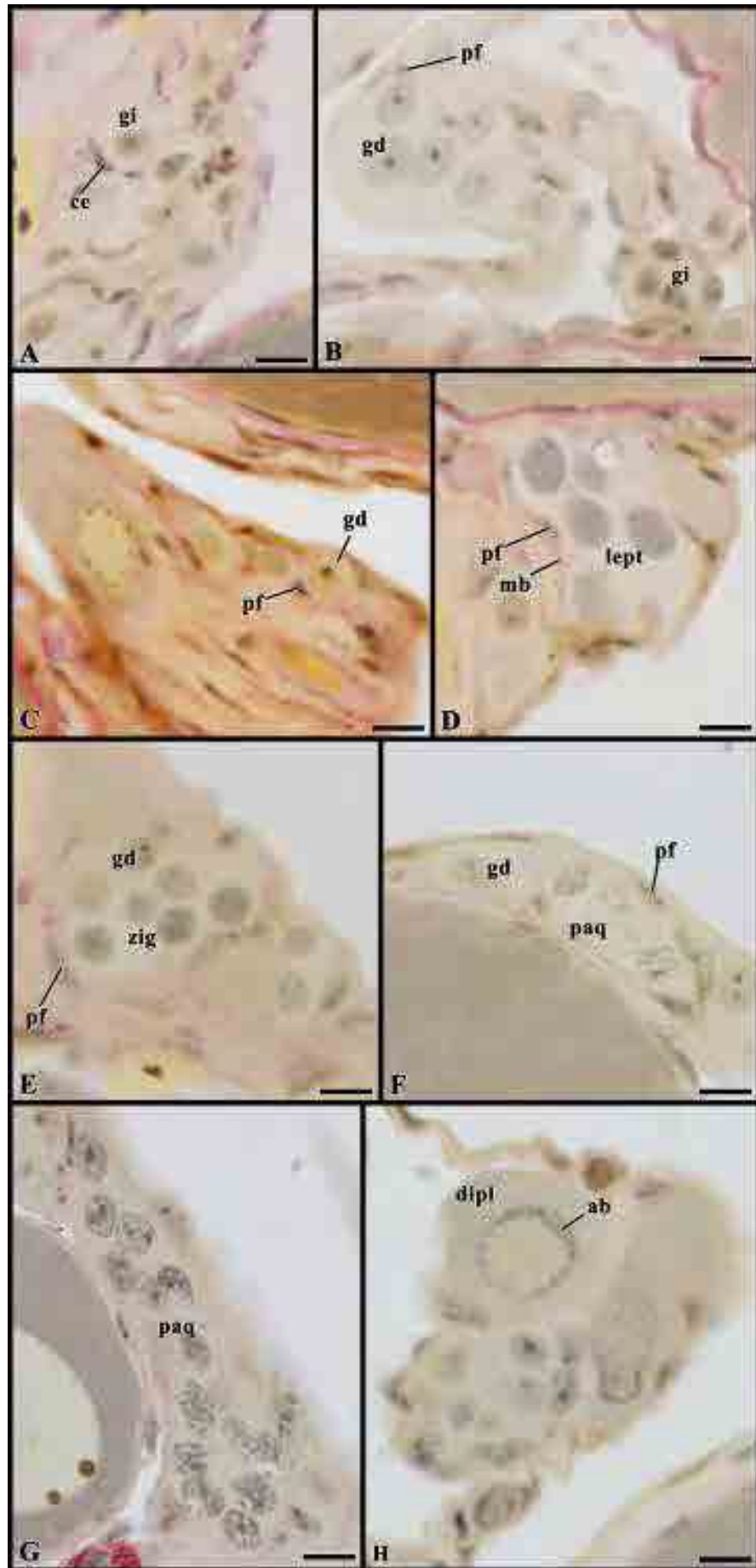


Figura 14. Folliculogênese em Fêmeas de *Hoplias malabaricus*. **A:** Oogônia indiferenciada (**gi**), envolvida por células epiteliais (**ce**). **B-C:** Oogônias diferenciadas (**gd**), envolvidas por células pré-foliculares (**pf**), apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). **D:** Ninho com cistos de Oócitos Leptotênicos (**lept**), Zigotênicos (**zig**) e oogônia diferenciada (**gd**). **mb:** membrana basal; **pf:** células pré-foliculares. **E:** Oócitos Zigotênicos (**zig**). **eg:** epitélio germinativo; **pf:** células pré-foliculares. **F:** Oócitos Paquitênicos. **pf:** células pré-foliculares. **G-H:** Diplóteno (**dipl**). **ab:** anel basofílico.

Coloração: A -H: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A-H: 6,25µm.

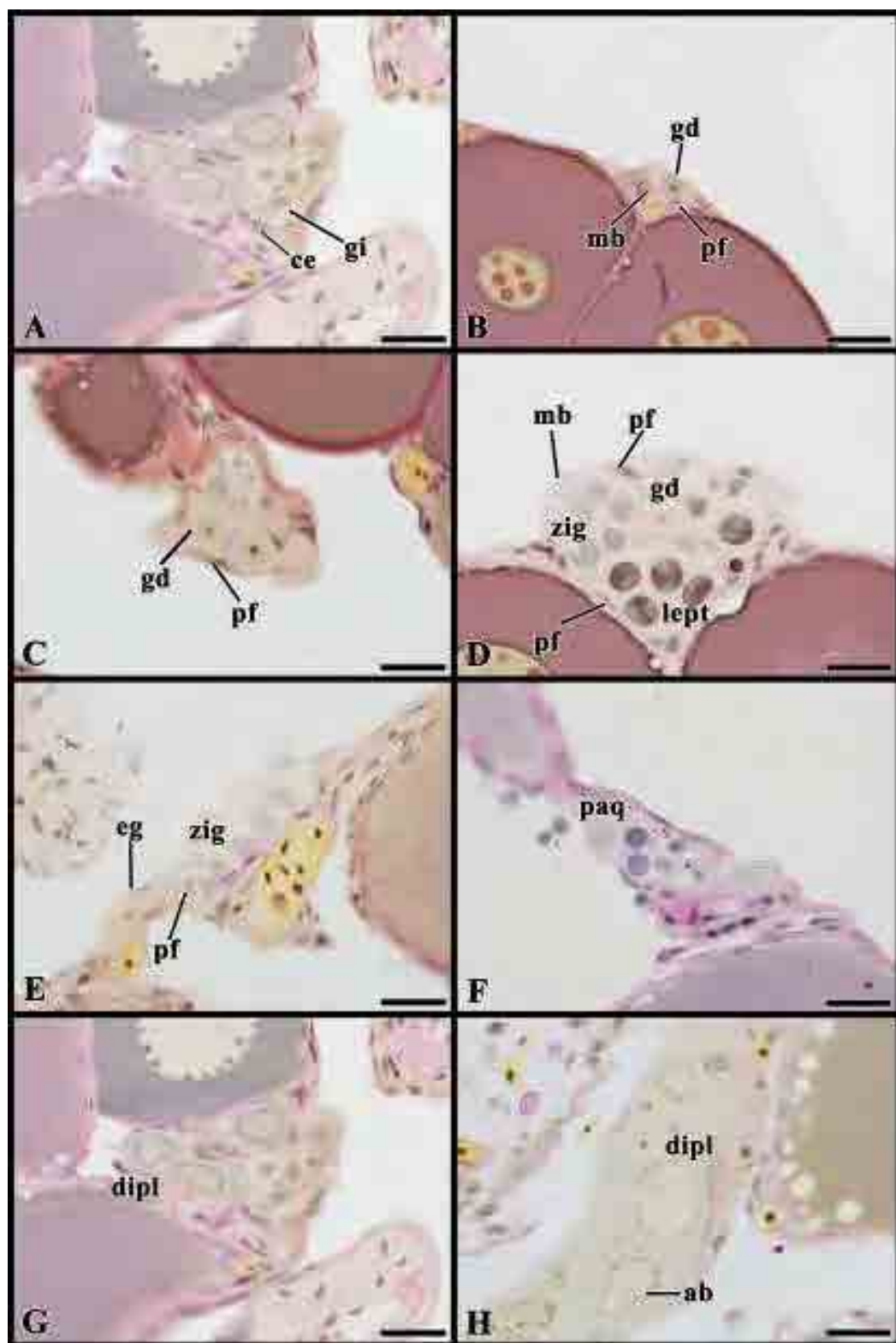


Figura 15. Foliculogênese em Fêmeas de *Sorubim lima*. **A:** Oogônia indiferenciada (**gi**), envolvida por células epiteliais (**ce**). **B-D:** Oogônias diferenciadas (**gd**), envolvidas por células pré-foliculares (**pf**). **E:** Oócitos Leptotênicos (**lept**). **pf:** células pré-foliculares. **F:** Ninho de Oócitos Leptotênicos (**lept**) e oogônias diferenciadas do tipo B (**gd**), separados do epitélio germinativo (**eg**) pelas células pré-foliculares (**pf**) e membrana basal. **G:** Oócitos Zigotênicos (**zig**). **H:** Oócitos Paquitênicos. **I:** Diplóteno (**dipl**). **ab:** anel basofílico.

Coloração: A –D e I: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow; E-H: Hematoxilina Férrica/Eosina.

Escala: A-H: 3,13µm.

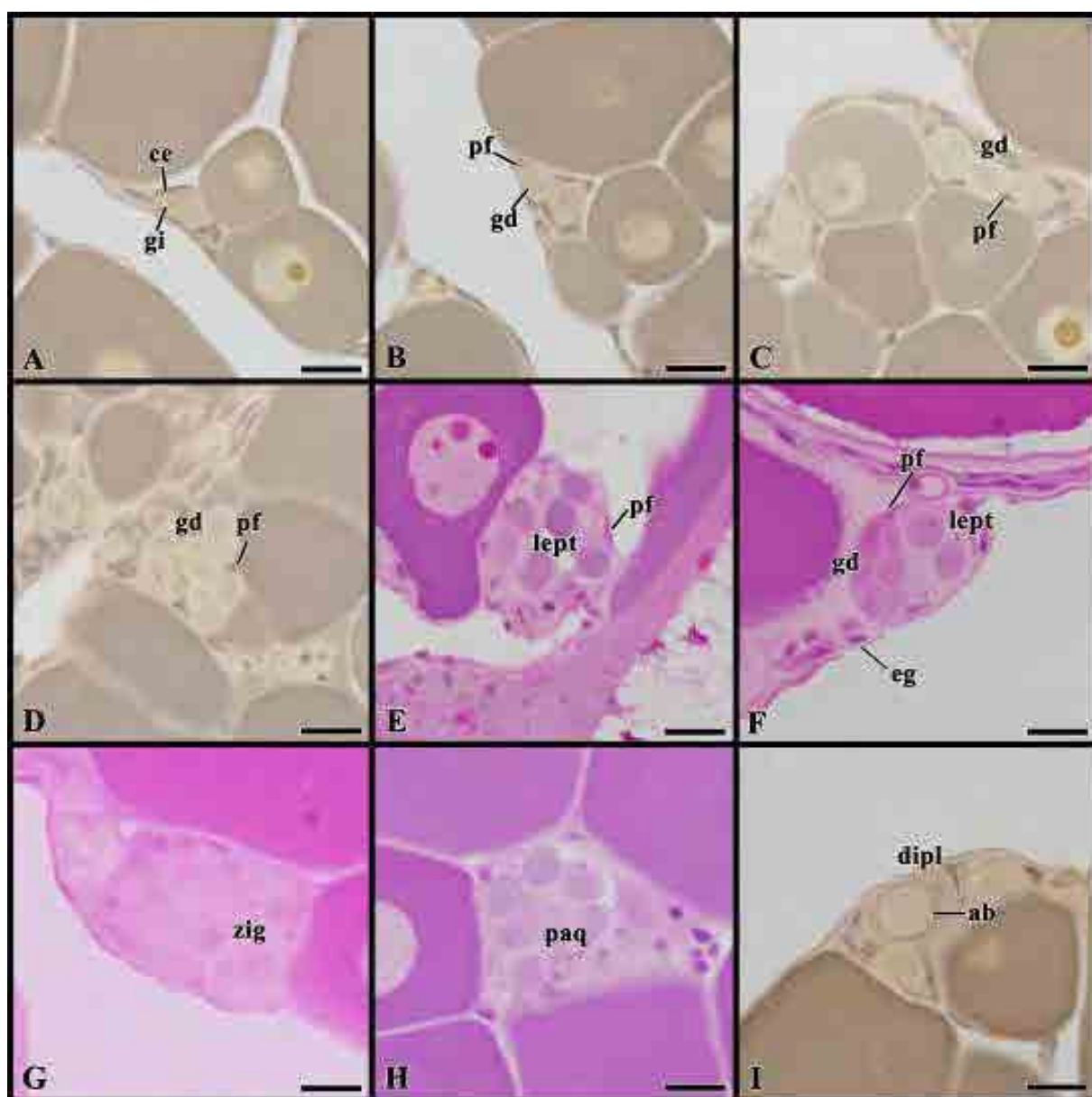


Figura 16. Folliculogênese em Fêmeas de *Tanichthys albonubes*. **A:** Oogônia indiferenciada (**gi**), envolvida por células epiteliais (**ce**). **B-C:** Oogônias diferenciadas (**gd**), envolvidas por células pré-foliculares (**pf**). **D:** Oócitos Leptotênicos (**lept**). **pf:** células pré-foliculares. **E:** Oócitos Zigotênicos (**zig**). **pf:** células pré-foliculares. **F:** Oócitos Paquitênicos. **pf:** células pré-foliculares. **G-H:** Diplóteno (**dipl**). **ab:** anel basofílico; **nu:** nucléolos.

Coloração: A-H: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A – 4,16µm; B – 4,16µm; C - 5,69µm; D– 4,2µm; E- 3,1µm; F- 4,11µm; G- 3,79µm; H- 3,22µm.

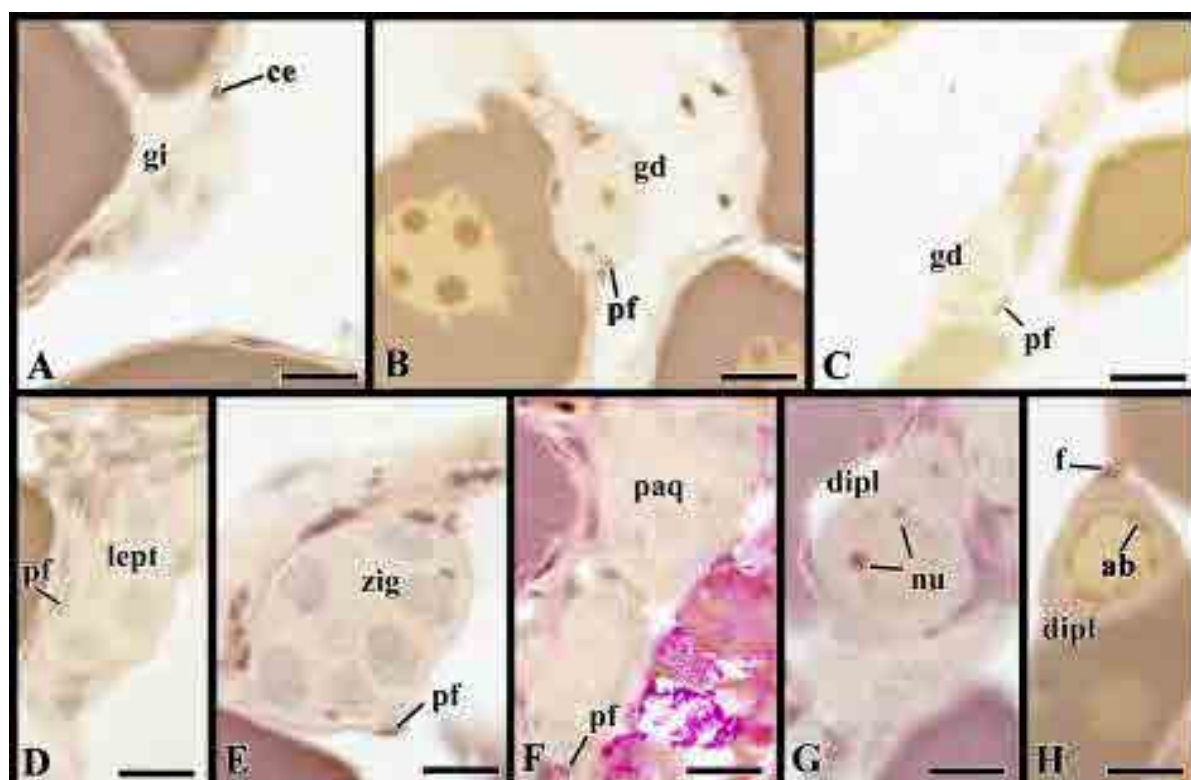


Figura 17. Estágios de Desenvolvimento Oocitário em *Cichla temensis*. **A-E:** Crescimento Primário do oócito (**op**). A-D: O oócito aumenta progressivamente de tamanho e basofilia, envolvido por células foliculares (**f**) pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). Núcleo com múltiplos nucléolos (**nu**) periféricos. D: O aspecto fissurado (**fs**) do citoplasma deve-se ao acúmulo de organelas citoplasmáticas. E: A produção da zona radiata (**zr**) coincide com o aparecimento de reentrâncias na região perinuclear (**cabeça de seta**) e o início do declínio progressivo da basofilia citoplasmática. E*: Nesse estágio, os oócitos encontram-se revestidos sequencialmente pela zona radiata, por uma camada de células foliculares (**f**) pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**), e pelas células da teca (**t**) externamente. **F-G:** Inicia-se a formação dos alvéolos corticais (**ac**) a partir da periferia do citoplasma oocitário e o início (**ovi**) da deposição de vitelo (**g**), que ao longo de desenvolvimento oocitário aumentam em tamanho e número. Pequenas vesículas lipídicas (**l**) aparecem no citoplasma próximo ao núcleo nesse período. G*: A zona radiata aumenta progressivamente de espessura e adquire duas camadas, uma interna (**zr'**) mais espessa em relação à externa (**zr''**). **H-K:** Crescimento Secundário. Glóbulos de vitelo preenchem gradativamente o citoplasma (**ov**) e na vitelogênese final (**ovf**), ocupam grande parte do citoplasma. Os alvéolos corticais (**ac**) posicionam-se periféricamente no citoplasma. As vesículas de lipídio se fundem, formando gotas de óleo (**l**) individualizadas. K*: Estrutura globular do vitelo. **L:** Na maturação oocitária final, o núcleo migra para o pólo animal em direção à micrópila (**mc**), formada pela célula micropilar contida em uma depressão da zona radiata (**zr**), com um canal micropilar (**can**) por onde o espermatozóide tem acesso ao oócito. As gotas de lipídio se fundem parcialmente, assim como o vitelo. As células foliculares, ao longo do crescimento secundário, tornam-se colunares e, posteriormente, prismáticas. Na maturação final, são mais altas no pólo vegetal em relação ao pólo animal, próximo à região da micrópila. **M:** Com a liberação do oócito maduro para o lúmen do ovário, o complexo folicular pós-ovulatório (**cfp**) é formado, composto pelas camadas externas à zona radiata (células foliculares e teca). **N-O:** Atresia folicular. Folículos atrésicos (**fa**) são formados, em um processo de reabsorção do conteúdo oocitário. O citoplasma torna-se claro pela coalescência das gotas de lipídio e do vitelo.

Coloração: A-O: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A: 3,33µm; B: 10µm; C: 3,13µm; D: 2,94µm; E: 8,7µm; E*: 25µm; F: 13,89µm; F*: 25µm; G: 20µm; G*: 10µm; H: 18,18µm; I: 21,33µm; I*: 9,1µm; J: 40µm; J*: 33,33µm; K: 28,57µm; K*: 5,56µm; L: 26,67µm; L*: 6,25µm; L**: 10; M: 23,53µm; N: 18,18µm; O: 3,33µm.

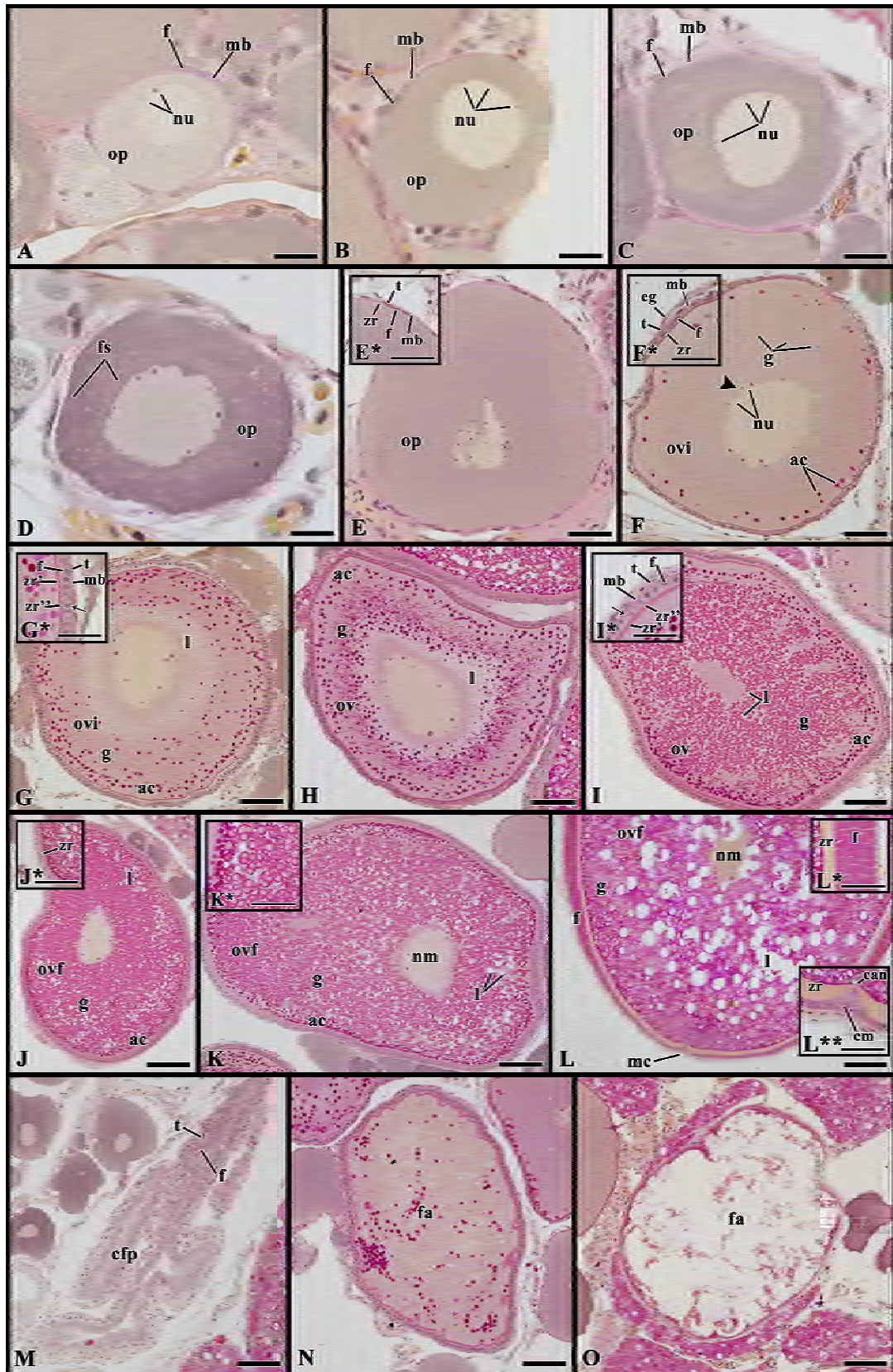


Figura 18. Estágios de Desenvolvimento Oocitário em *Gymnotus* sp. **A-B:** Crescimento Primário do oócito (**op**). A-D: O oócito aumenta progressivamente de tamanho e basofilia, envolvido por células foliculares (**f**) pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). O núcleo apresenta numerosos nucléolos (**nu**) periféricos. B: O aspecto fissurado (**fs**) do citoplasma deve-se ao acúmulo de organelas citoplasmáticas. **eg:** epitélio germinativo. **C:** A produção da zona radiata (**zr**) internamente à camada de células foliculares coincide com dois eventos, o aparecimento de reentrâncias na região perinuclear (**cabeça de seta**) e o início do declínio progressivo da basofilia citoplasmática. **C*:** Divisão folicular. **D-G:** Crescimento Secundário. Com a progressão da vitelogênese, os alvéolos corticais (**ac**) posicionam-se periféricamente. **D*:** os oócitos encontram-se revestidos sequencialmente pela zona radiata, por uma camada de células foliculares (**f**) cúbicas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**), e pelas células da teca (**t**) externamente. A zona radiata aumenta progressivamente de espessura. **g:** grânulos de vitelo; **ovi:** oócito vitelogênico inicial; **ov:** oócito vitelogênico; **ovf:** oócito vitelogênico final. **H-J:** Na maturação oocitária final, o núcleo migra para o pólo animal em direção à micrópila. **cm:** célula micropilar. **K:** Complexo folicular pós-ovulatório (**cfp**). **L:** Folículos atrésicos (**fa**) e vasos sanguíneos (**vs**).

Coloração: **A-D e F-L:** Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow; **E:** Azul de Toluidina - Bórax.

Escala: **A:** 7,69µm; **B:** 12,3µm; **C:** 44,44µm; **C':** 20µm; **D:** 150µm; **D':** 80µm; **E:** 150µm; **F:** 50µm; **G:** 222,22µm; **H:** 222,22µm; **I:** 222,22µm; **J:** 50µm; **K:** 444,44µm; **L:** 222,22µm.

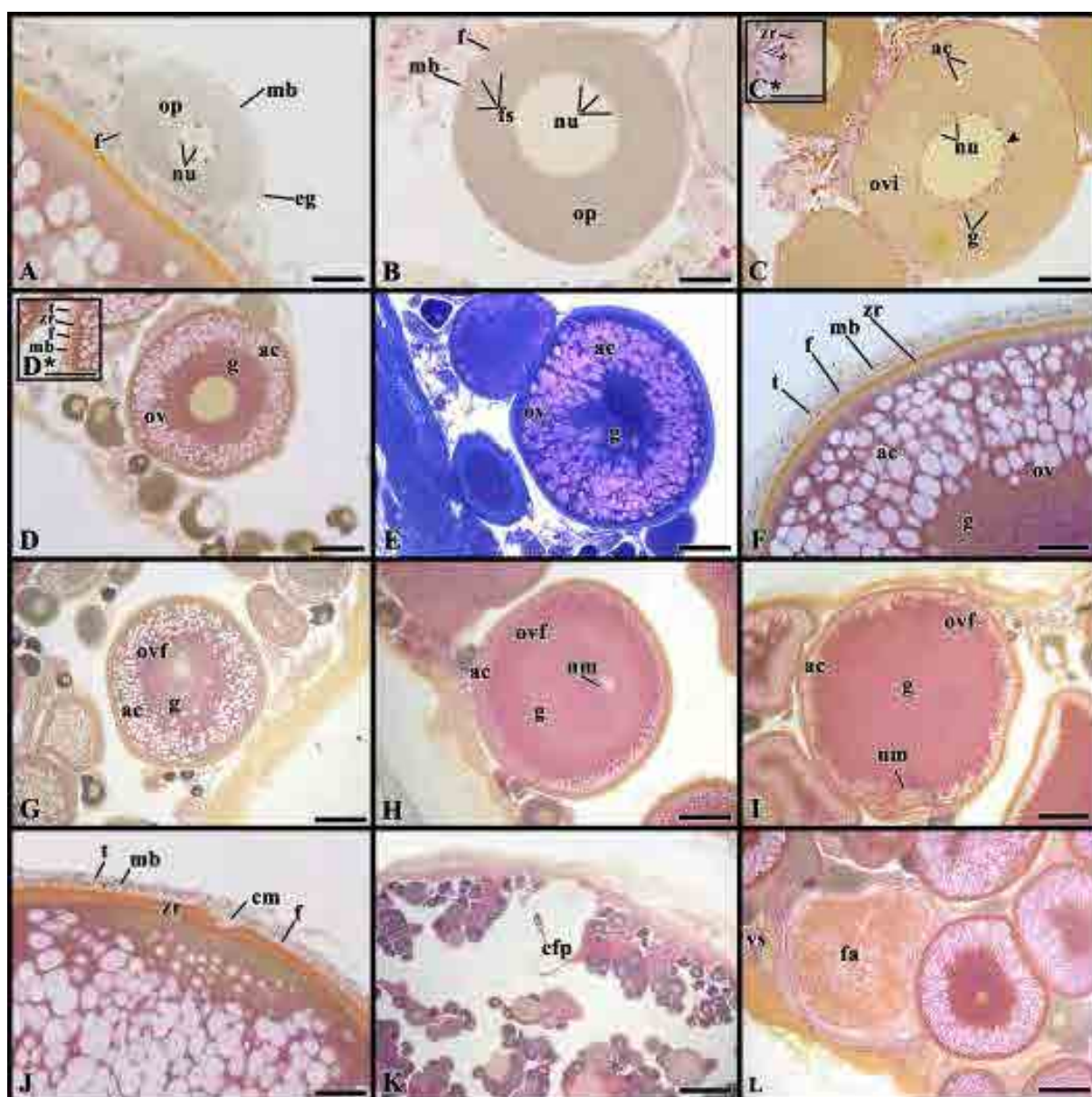


Figura 19. Estágios de Desenvolvimento Oocitário em *Hoplias malabaricus*. **A-C:** Crescimento Primário do oócito (**op**). Aumento progressivo de tamanho e basofilia oocitária, envolvido por células foliculares (**f**) pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). O núcleo apresenta numerosos nucléolos (**nu**) periféricos. **B:** Aspecto fissurado (**fs**) do citoplasma. **eg:** epitélio germinativo. **D:** A produção da zona radiata (**zr**) internamente à camada de células foliculares coincide com dois eventos, o aparecimento de reentrâncias na região perinuclear (**cabeça de seta**) e o início do declínio progressivo da basofilia citoplasmática. **E-H:** Crescimento Secundário. Com a progressão da vitelogênese, os alvéolos corticais (**ac**) posicionam-se periféricamente. **D*:** os oócitos encontram-se revestidos sequencialmente pela zona radiata, por uma camada de células foliculares (**f**) cúbicas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**), e pelas células da teca (**t**) externamente. A zona radiata aumenta progressivamente de espessura e adquire duas camadas, a interna (**zr'**) mais espessa em relação à externa (**zr''**). **g:** grânulos de vitelo; **ovi:** oócito vitelogênico inicial ; **ov:** oócito vitelogênico; **ovf:** oócito vitelogênico final. **I-J:** Na maturação oocitária final, o núcleo migra para o pólo animal em direção à micrópila. **can:** Canal micropilar; **cm:** célula micropilar. **K:** Complexo folicular pós-ovulatório (**cfp**). **L:** Folículos atrésicos (**fa**).

Coloração: A-L: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: **A:** 6,25µm; **B:** 13,33µm; **C:** 10,42µm; **C':** 8,33µm; **D:** 16,67µm; **D':** 10µm; **E:** 26,67µm; **F:** 31,25µm; **G:** 50µm; **G':** 5µm; **H:** 50µm; **I:** 50µm; **J:** 8,33µm; **K:** 28,57µm; **L:** 33,33µm.

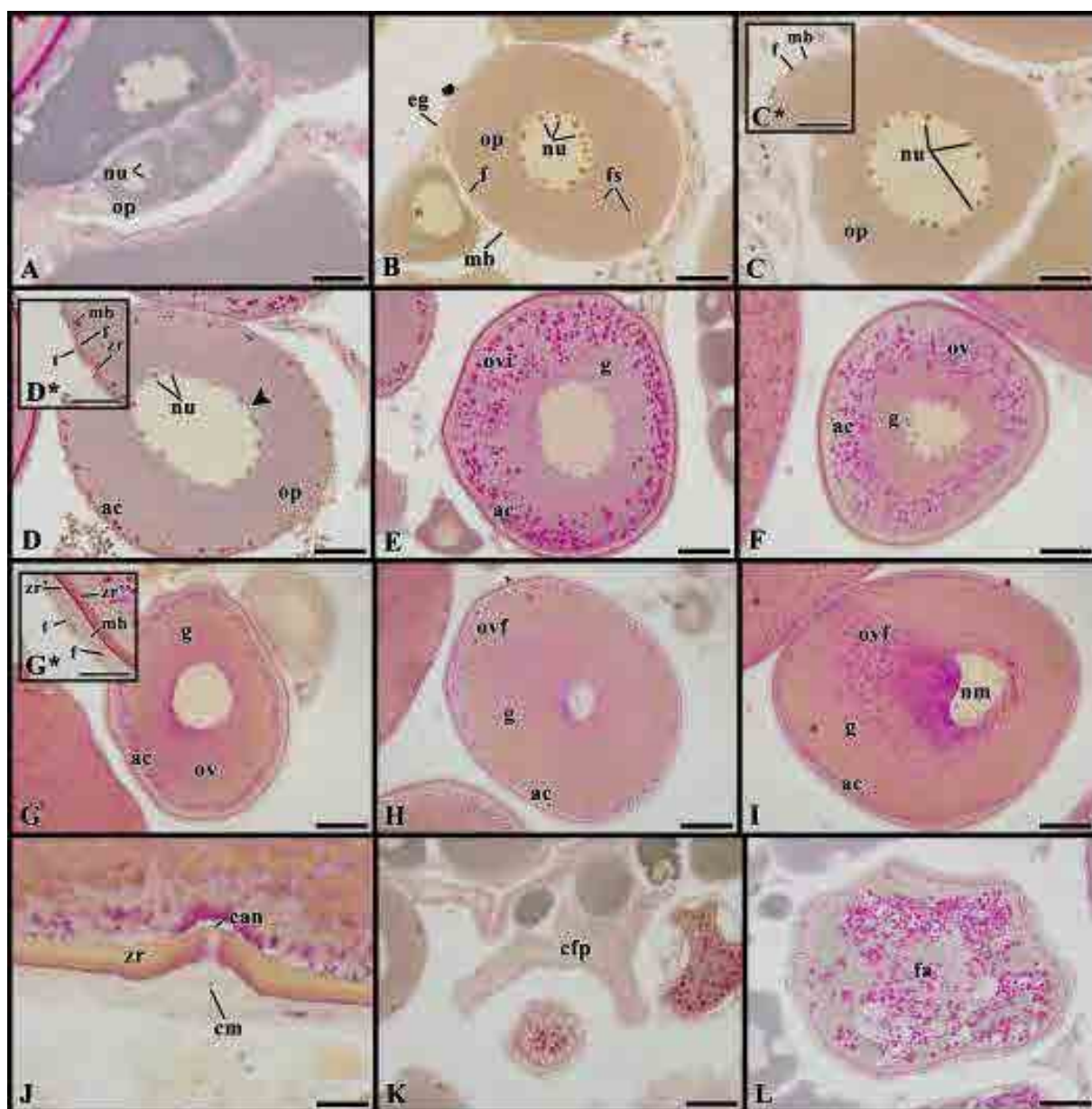


Figura 20. Estágios de Desenvolvimento Oocitário em *Sorubim lima*. **A-C:** Crescimento Primário do oócito (**op**). Aumento progressivo de tamanho e basofilia oocitária, envolvido por células foliculares (**f**) pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). O núcleo apresenta numerosos nucléolos (**nu**) periféricos. **D:** Produção da zona radiata (**zr**) internamente à camada de células foliculares. **E-H:** Crescimento Secundário. Com a progressão da vitelogênese, os alvéolos corticais (**ac**) posicionam-se periféricamente. **D*:** os oócitos encontram-se revestidos sequencialmente pela zona radiata, por uma camada de células foliculares (**f**) prismáticas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**), e pelas células da teca (**t**) externamente. A zona radiata aumenta progressivamente de espessura. **g:** grânulos de vitelo; **ovi:** oócito vitelogênico inicial; **ov:** oócito vitelogênico; **ovf:** oócito vitelogênico final. **I:** Na maturação oocitária final, o núcleo migra para o pólo animal em direção à micrópila. **J:** Complexo folicular pós-ovulatório (**cfp**). **K-L:** Folículos atrésicos (**fa**).

Coloração: **A-D:** Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow; **E-H e K-L:** Hematoxilina Férrica; **I-J:** Azul de Toluidina - Bórax.

Escala: **A:** 8,33µm; **B:** 10,42µm; **C:** 10,42µm; **C':** 9,1µm; **D:** 50µm; **D':** 14,29µm; **E:** 26,67µm; **E':** 14,29µm; **F:** 26,67µm; **F':** 14,29µm; **G:** 62,5µm; **G':** 33,33µm; **H:** 50µm; **H':** 62,5µm; **I:** 50µm; **I':** 33,33µm; **J:** 62,5µm; **K:** 20,83µm; **L:** 16,67µm.

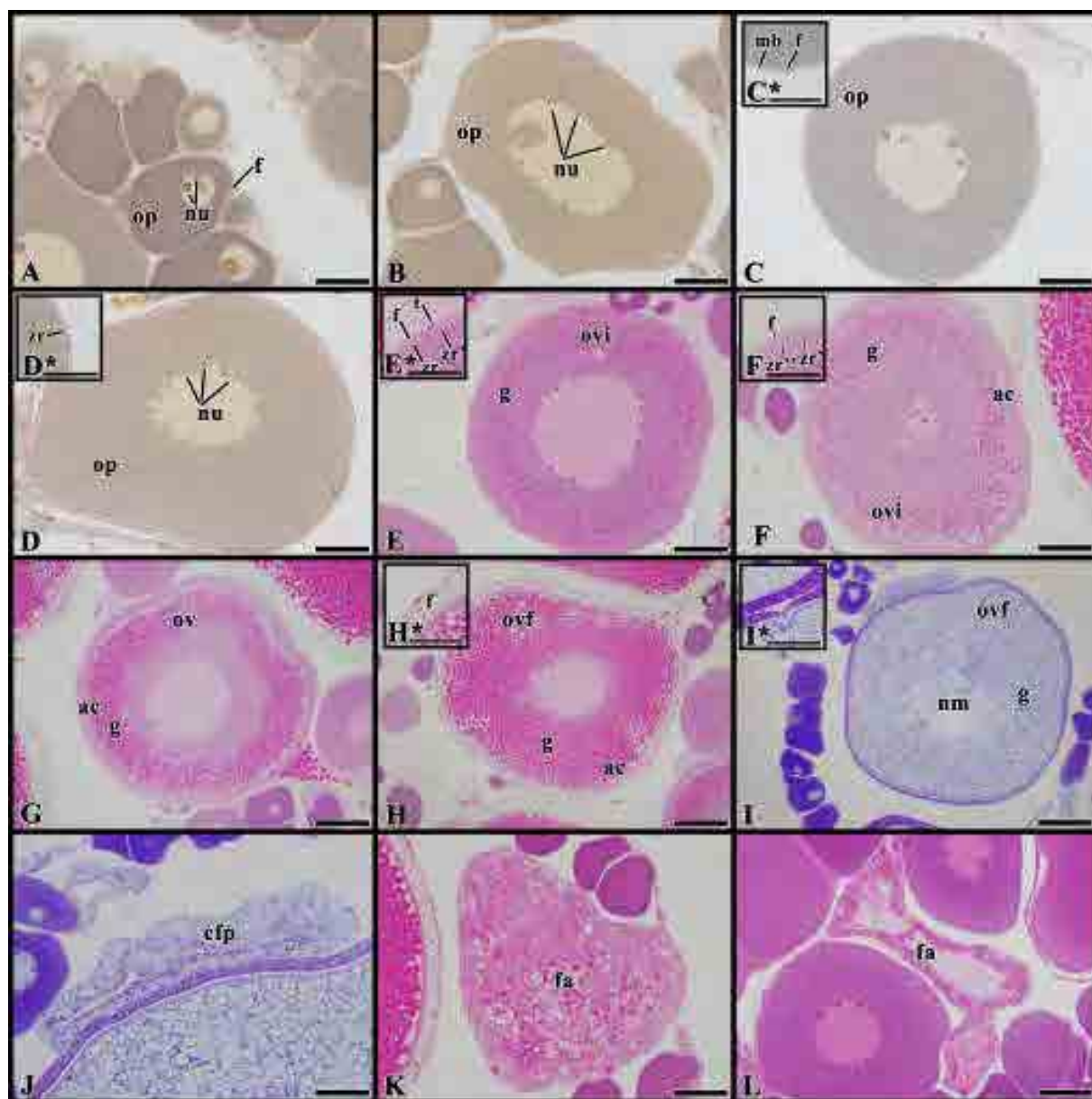


Figura 21. Estágios de Desenvolvimento Oocitário em *Tanichthys albonubes*. **A-D:** Crescimento Primário do oócito (**op**). Aumento progressivo de tamanho e basofilia oocitária, envolvido por células foliculares (**f**) pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**). O núcleo apresenta numerosos nucléolos (**nu**) periféricos. **B-C:** Os oócitos encontram-se apoiados sobre a membrana basal, compartilhando-a com o epitélio germinativo (**eg**) por certa extensão. **E-G:** Os alvéolos corticais começam a preencher o citoplasma a partir da periferia. Os oócitos encontram-se revestidos sequencialmente pela zona radiata, por uma camada de células foliculares (**f**) pavimentosas, apoiadas sobre a membrana basal (**mb**), e pelas células da teca (**t**) externamente. **H-J:** Crescimento Secundário. Com a progressão da vitelogênese, os alvéolos corticais (**ac**) posicionam-se periféricamente. A zona radiata aumenta progressivamente de espessura. **g:** grânulos de vitelo; **ovi:** oócito vitelogênico inicial; **ov:** oócito vitelogênico; **ovf:** oócito vitelogênico final. **K-N:** Na maturação oocitária final, o núcleo migra para o pólo animal em direção à micrópila. **can:** Canal micropilar; **cm:** célula micropilar. **O:** Complexo folicular pós-ovulatório (**cfp**). **P-Q:** Atresias: **gr:** granulócitos; **mac:** macrófagos; **vs:** vaso sanguíneo. Folículos atrésicos (**fa**).

Coloração: **A e D-Q:** Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow; **B-C:** Método de Reticulina.

Escala: **A** – 27,78µm; **B-** 5,31µm; **C-** 37,09µm; **D-** 7,57µm; **D'-** 3,27µm; **E** - 12,5µm; **F** - 25µm; **G** - 2,38µm; **H-** 22,22µm; **I-** 20µm; **J-** 28,57µm; **K-** 25µm; **L-** 28,57µm; **M-** 12,5µm; **N-** 2,63µm; **O-** 20µm; **P-** 14,29µm; **Q-** 25µm.

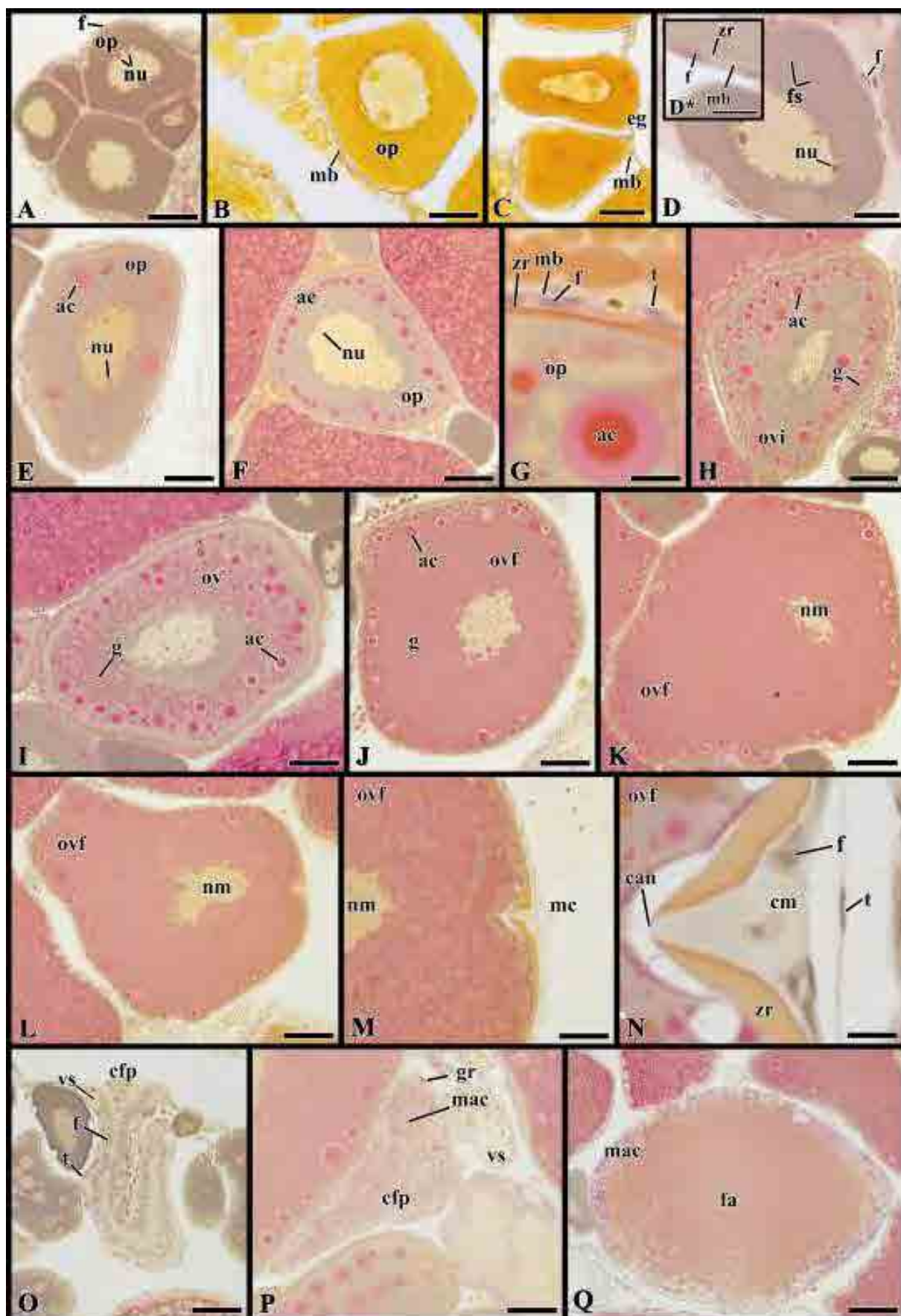


Figura 22. Esquema de Desenvolvimento Oocitário – Grupos Basais (Série Otophysi) e Derivados (Perciformes de água doce).

Figura 23. Fases Reprodutivas em Fêmeas de *Cichla temensis*. **A-C:** Fase em *Regeneração*. As lamelas ovígeras contêm oócitos em início de crescimento primário (sem alvéolos corticais) (**op**). É visível o aumento da proliferação de células germinativas, com oogônias e oócitos profásicos formando cistos germinativos (**seta**). **D-F:** Fase de *Desenvolvimento*. Oócitos em crescimento primário (**op**) e oócitos com alvéolos corticais (**ac**) variáveis em tamanho e em início de deposição de gotas de óleo (**I**). **G-I:** Fase Apto a Desova. Oócitos em todos os estágios de desenvolvimento podem ser observados. **op:** oócitos em crescimento primário; **ov:** oócitos vitelogênicos; **ovf:** oócitos vitelogênicos finais; **J-L:** Subfase *Desova ativa* (Fase Apto a Desova). Oócitos com núcleo migrando (**nm**). **M-N:** Fase de *Regressão*. Oócitos vitelogênicos são ainda encontrados nessa fase. Ocorre atresia folicular (**fa**), observando-se a presença de grande quantidade de macrófagos (**mac**).

Coloração: A-O: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A: 344,83µm; B: 66,67µm; C: 16,67µm; D: 357,14µm; E: 62,5µm; F: 66,67µm; G: 416,67µm; H: 66,67; I: 66,67µm; J: 714,29µm; K: 66,67µm; L: 66,67µm M: 625µm; N: 714,29µm; O: 714,29µm.

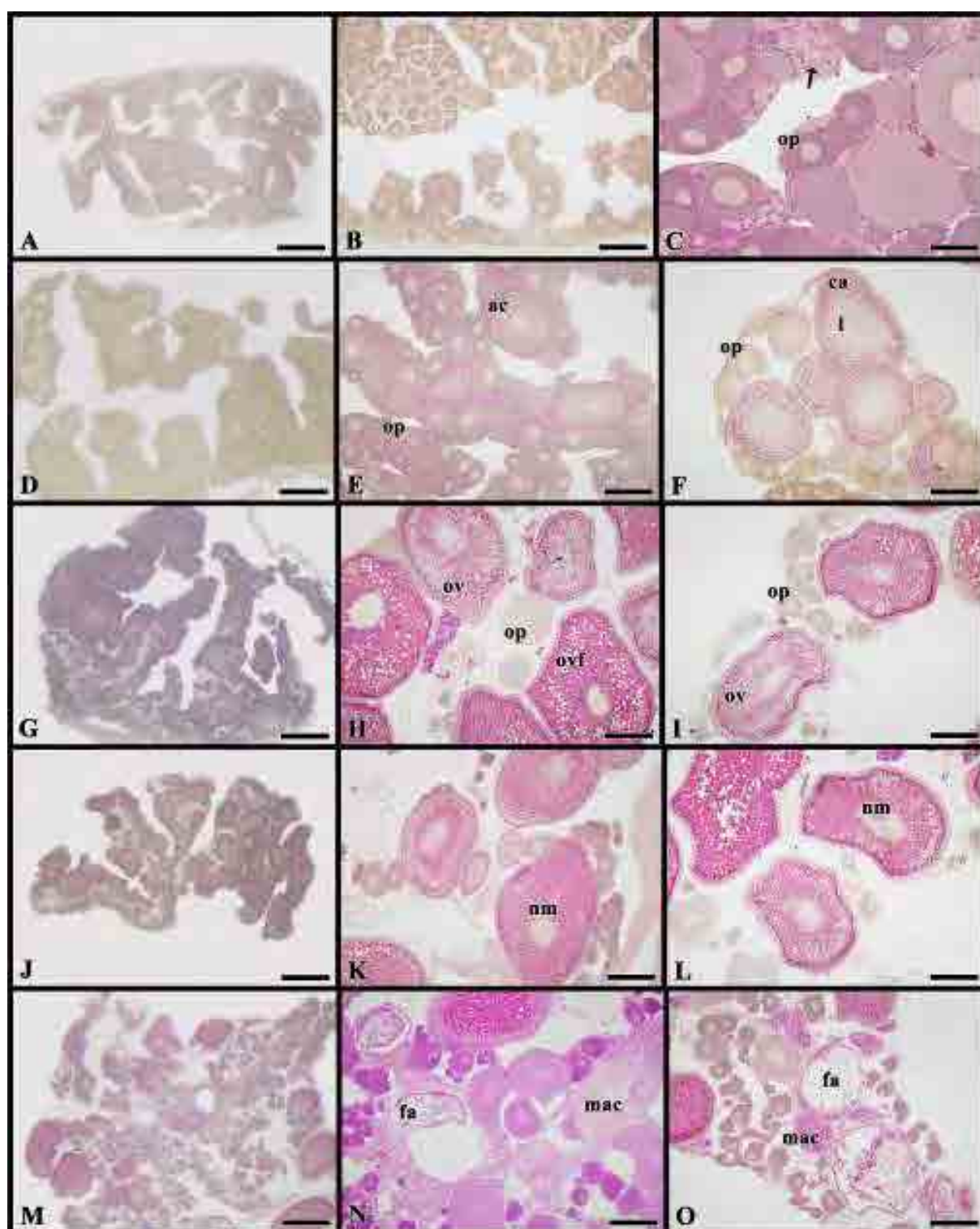


Figura 24. Fases Reprodutivas em Fêmeas de *Gymnotus* sp. **A-C:** Fase em *Regeneração*. As lamelas ovígeras contêm oócitos em início de crescimento primário (sem alvéolos corticais) (**op**). **D-F:** Subfase *Início de Desenvolvimento* (Fase de *Desenvolvimento*). Oócitos em crescimento primário (**op**) e oócitos com alvéolos corticais (**ac**) variáveis em tamanho. **G-I:** Fase de *Desenvolvimento*. Oócitos primários (**op**), com alvéolos corticais (**ac**), vitelogênicos (**ov**) e em início de vitelogênese (ovi). **J-L:** Fase Apto a Desova. Oócitos em todos os estágios de desenvolvimento podem ser observados. **op:** oócitos em crescimento primário; **ac:** oócitos com alvéolos corticais; **ov:** oócitos vitelogênicos; **ovf:** oócitos vitelogênicos finais; **M-O:** Subfase *Desova ativa* (Fase Apto a Desova). Oócitos com núcleo migrando (**nm**). **P-R:** Fase de *Regressão*. Oócitos vitelogênicos são ainda encontrados nessa fase. Ocorre atresia folicular (**fa**).

Coloração: A-R: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A: 1176,47µm; B: 71,43µm; C: 71,43µm; D: 571,43µm; E: 285,71µm; F: 71,43µm; G: 1176,47µm; H: 400µm; I: 285,71µm; J: 952,38µm; K: 71,43µm; L: 71,43µm; M: 1176,47µm; N: 71,43µm; O: 71,43µm; P: 1176,47µm; Q: 400µm; R: 71,43µm.

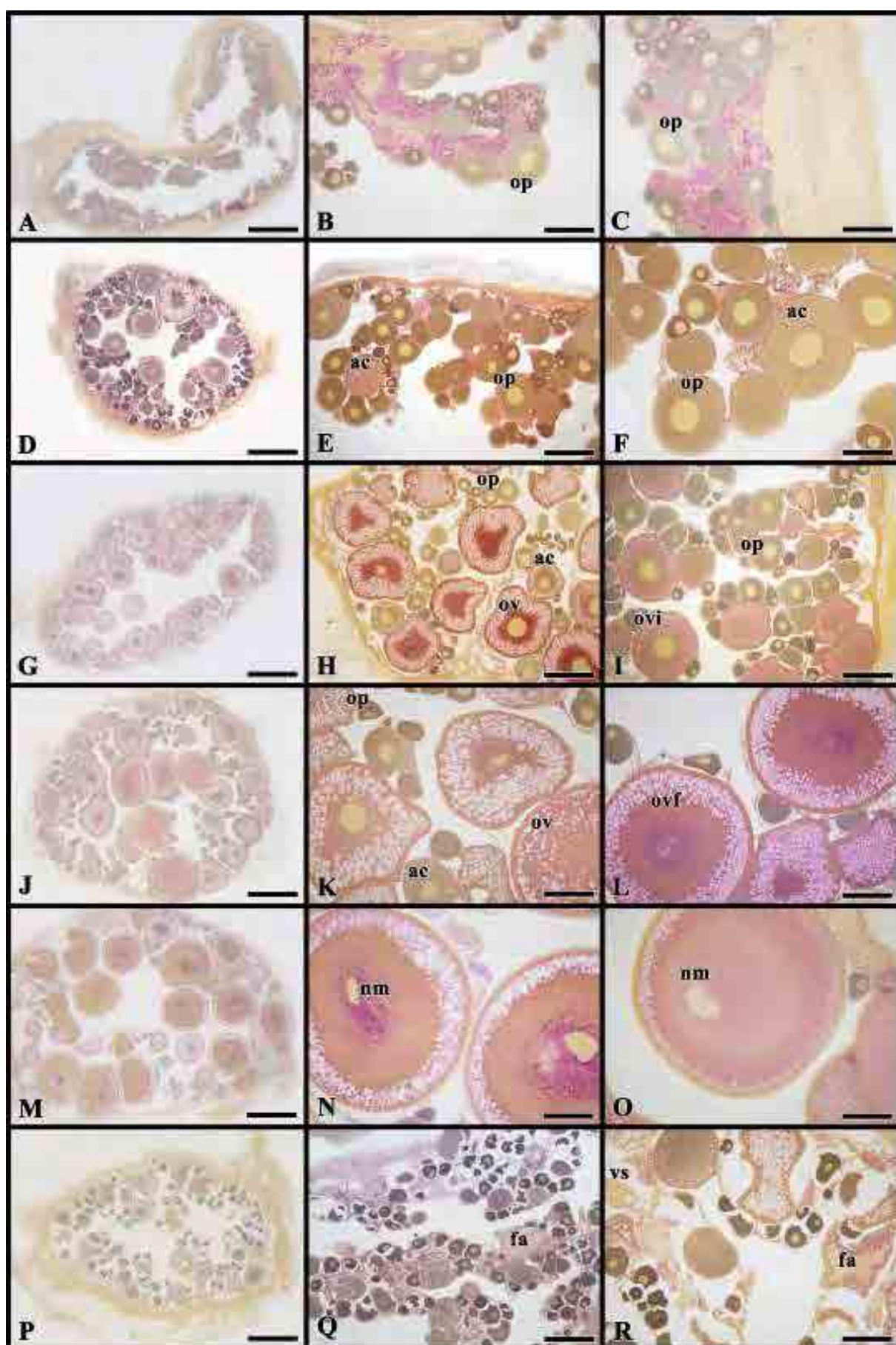


Figura 25. Fases Reprodutivas em Fêmeas de *Hoplias malabaricus*. **A-C:** Fase em *Regeneração*. As lamelas ovígeras contêm oócitos em início de crescimento primário (sem alvéolos corticais) (**op**) e folículos atrésicos (**fa**). **D-F:** Fase de *Desenvolvimento*. Oócitos primários (**op**), com alvéolos corticais (**ac**), vitelogênicos (**ov**) e em início de vitelogênese (**ovi**). **G-I:** Fase Apto a Desova. Oócitos em todos os estágios de desenvolvimento podem ser observados. **op:** oócitos em crescimento primário; **ac:** oócitos com alvéolos corticais; **ov:** oócitos vitelogênicos; **ovf:** oócitos vitelogênicos finais; **J-L:** Subfase *Desova ativa* (Fase Apto a Desova). Oócitos com núcleo migrando (**nm**). **M-O:** Fase de *Regressão*. Oócitos vitelogênicos são ainda encontrados nessa fase. Macrófagos (**mac**) e vasos sanguíneos (**vs**) são proeminentes.

Coloração: A-O: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: A: 625µm; B: 30,77µm; C: 62,5µm; D: 645,16µm; E: 62,5µm; F: 62,5 µm; G: 645,16µm; H: 62,5µm; I: 62,5µm; J: 500µm; K: 62,5µm; L: 62,5µm; M: 645,16µm; N: 62,5µm; O: 62,5µm.

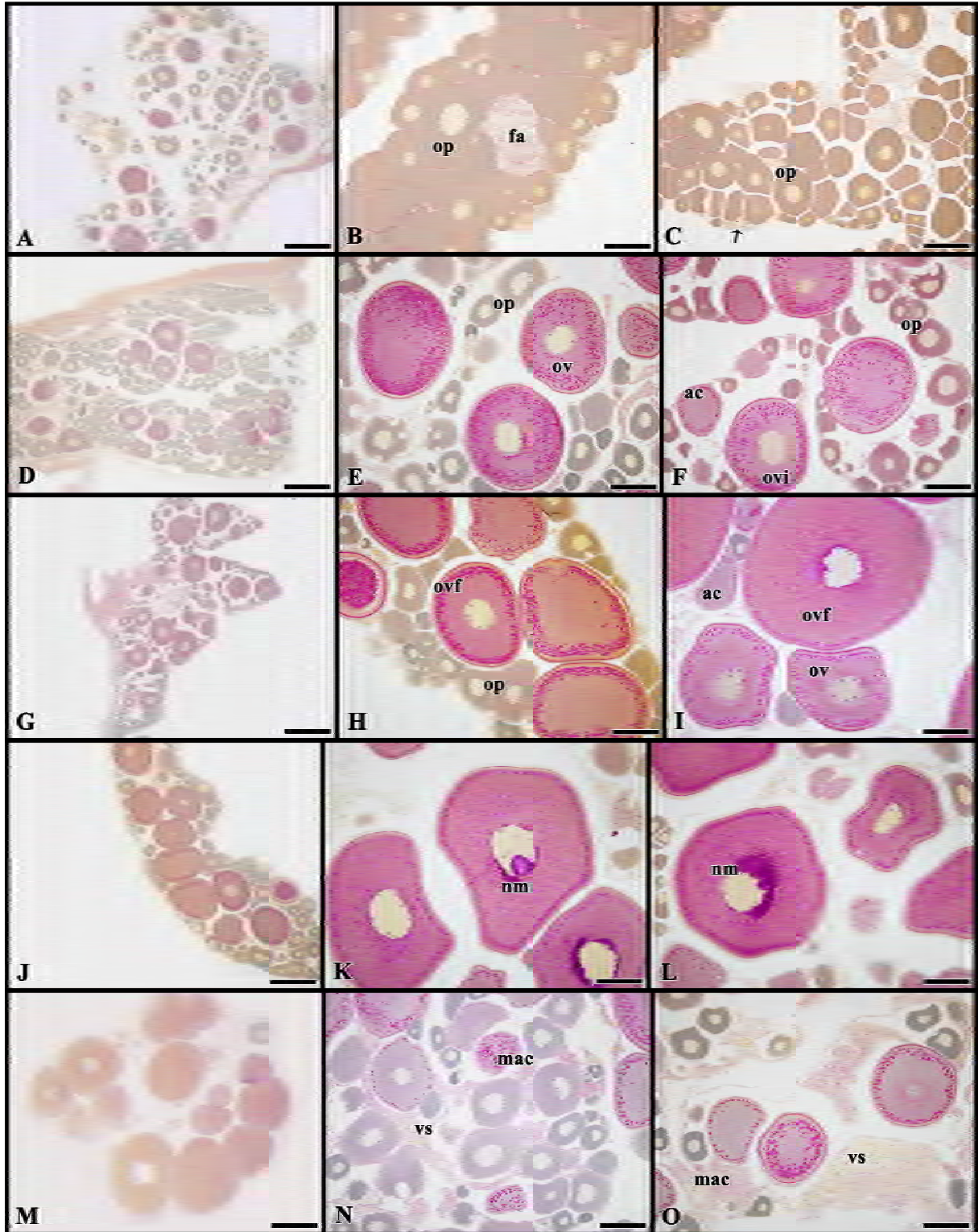


Figura 26. Fases Reprodutivas em Fêmeas de *Sorubim lima*. **A-C:** Fase em *Regeneração*. As lamelas ovígeras contêm oócitos em início de crescimento primário (sem alvéolos corticais) (**op**) e folículos atrésicos (**fa**). Centros melanomacrofágicos (**cmel**) **D-F:** Subfase *Início de Desenvolvimento* (Fase de *Desenvolvimento*). Oócitos primários (**op**) e com alvéolos corticais (**ac**). **G-I:** Fase Apto a Desova. Oócitos em todos os estágios de desenvolvimento podem ser observados. **op:** oócitos em crescimento primário; **ov:** oócitos vitelogênicos; **ovf:** oócitos vitelogênicos finais; **J-L:** Subfase *Desova ativa* (Fase Apto a Desova). Oócitos com núcleo migrando (**nm**). **M-O:** Fase de *Regressão*. Oócitos vitelogênicos são ainda encontrados nessa fase. Folículos atrésicos (**fa**).

Coloração: **A-D, G, I, J, L, M e O:** Hematoxilina Férrica/Eosina; **E, F, H e K:** Azul de Toluidina – Bórax; **N:** Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escala: **A:** 588,24µm; **B:** 71,43µm; **C:** 16,67µm; **D:** 952,38µm; **E:** 71,43µm; **F:** 71,43µm; **G:** 952,38µm; **H:** 71,43µm; **I:** 18,18µm; **J:** 1111,11µm; **K:** 71,43µm; **L:** 71,43µm; **M:** 1176,47µm; **N:** 71,43µm; **O:** 71,43µm.

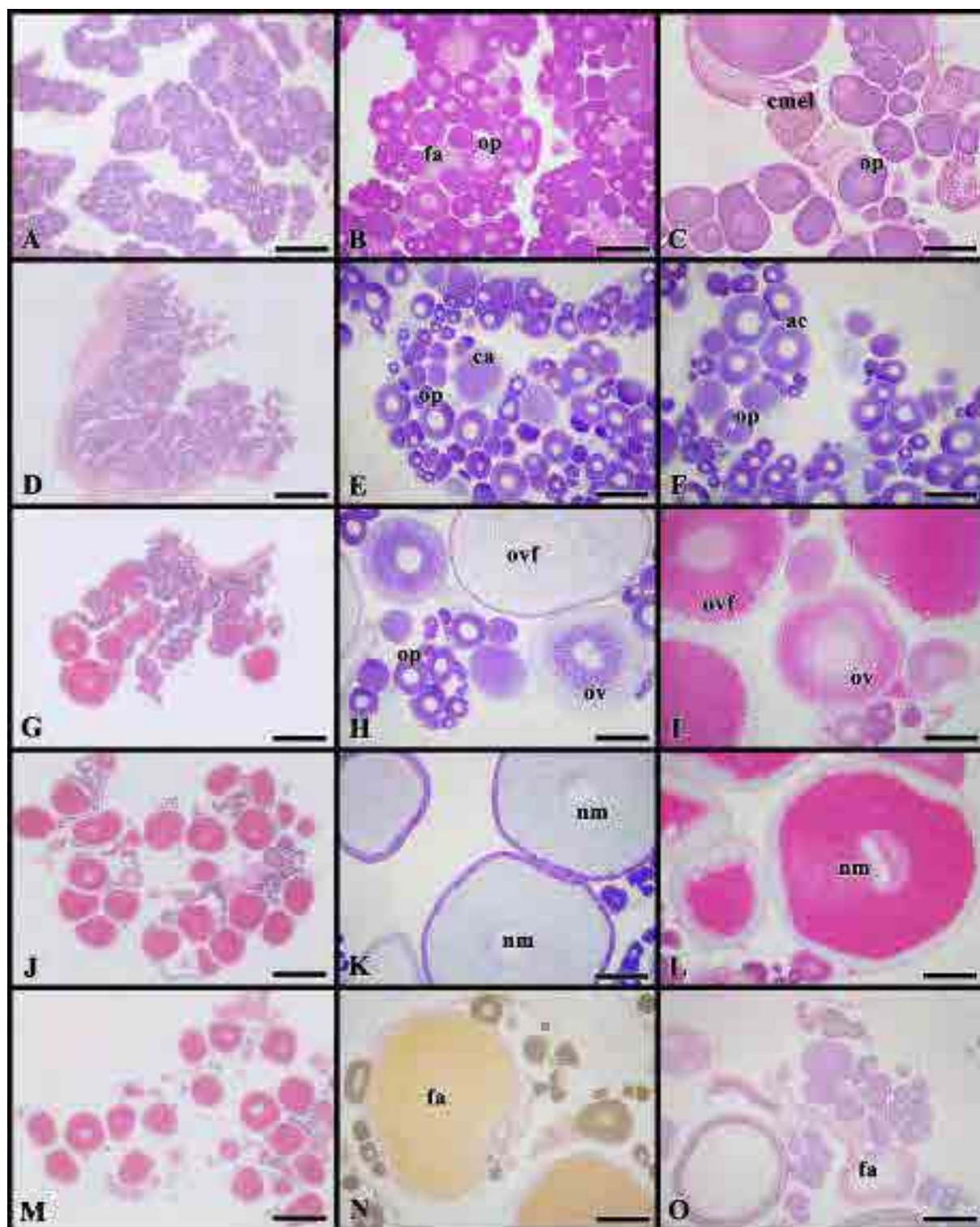


Figura 27. Fases Reprodutivas em Fêmeas de *Tanichthys albonubes*. **A-C:** Fase em *Regeneração*. As lamelas ovígeras contêm oócitos em início de crescimento primário (sem alvéolos corticais) (**op**) e folículos atrésicos (**fa**). **D-E:** Subfase *Início de Desenvolvimento* Fase de *Desenvolvimento*. Oócitos primários (**op**) e com alvéolos corticais (**ac**). **F-G:** Oócitos primários (**op**), com alvéolos corticais (**ac**) e vitelogênicos (**ov**). **H-J:** Fase Apto a Desova. Oócitos em todos os estágios de desenvolvimento podem ser observados, **ac:** oócitos com alvéolos corticais; **ovf:** oócitos vitelogênicos finais; **K-M:** Subfase *Desova ativa* (Fase Apto a Desova). Oócitos com núcleo migrando (**nm**) em direção à micrópila (**mc**). **N-P:** Fase de *Regressão*. Oócitos vitelogênicos são ainda encontrados nessa fase. Folículos atrésicos (**fa**) e complexos foliculares pós-ovulatórios (**cfp**) são observados. Macrófagos (**mac**) e vasos sanguíneos (**vs**) são proeminentes.

Coloração: A-P: Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow.

Escalas: A- 555,56µm; B-79,7µm; C- 18,52µm; D-333,33µm; E- 20,41µm; F- 454,55µm; G- 62,5µm; H-740,74µm; I-79,37µm; J- 83,33µm; K-714,29µm; L- 79,37µm; M- 14,29µm; N- 588,24µm; O- 78,13µm; P- 20,84µm.

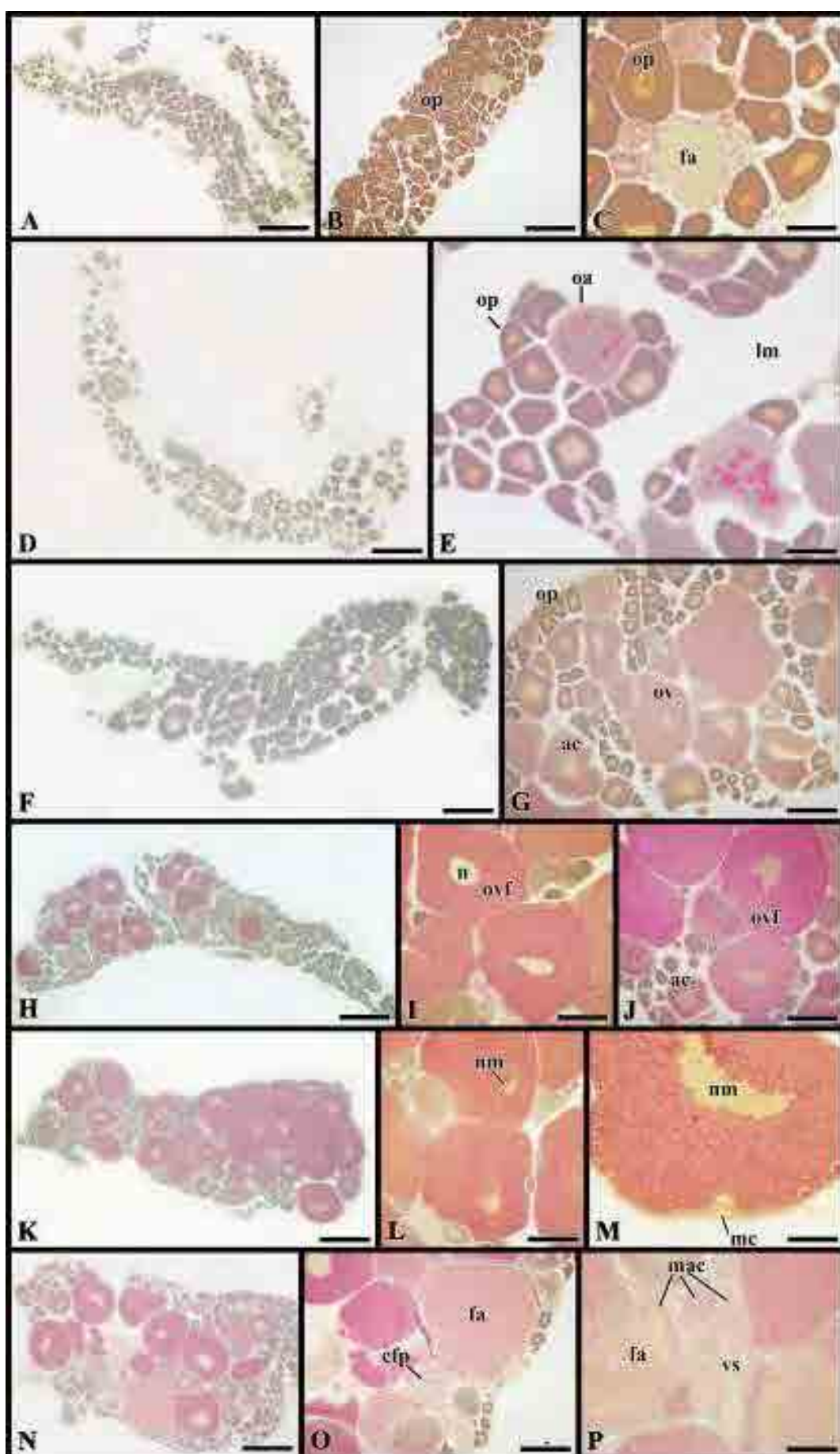
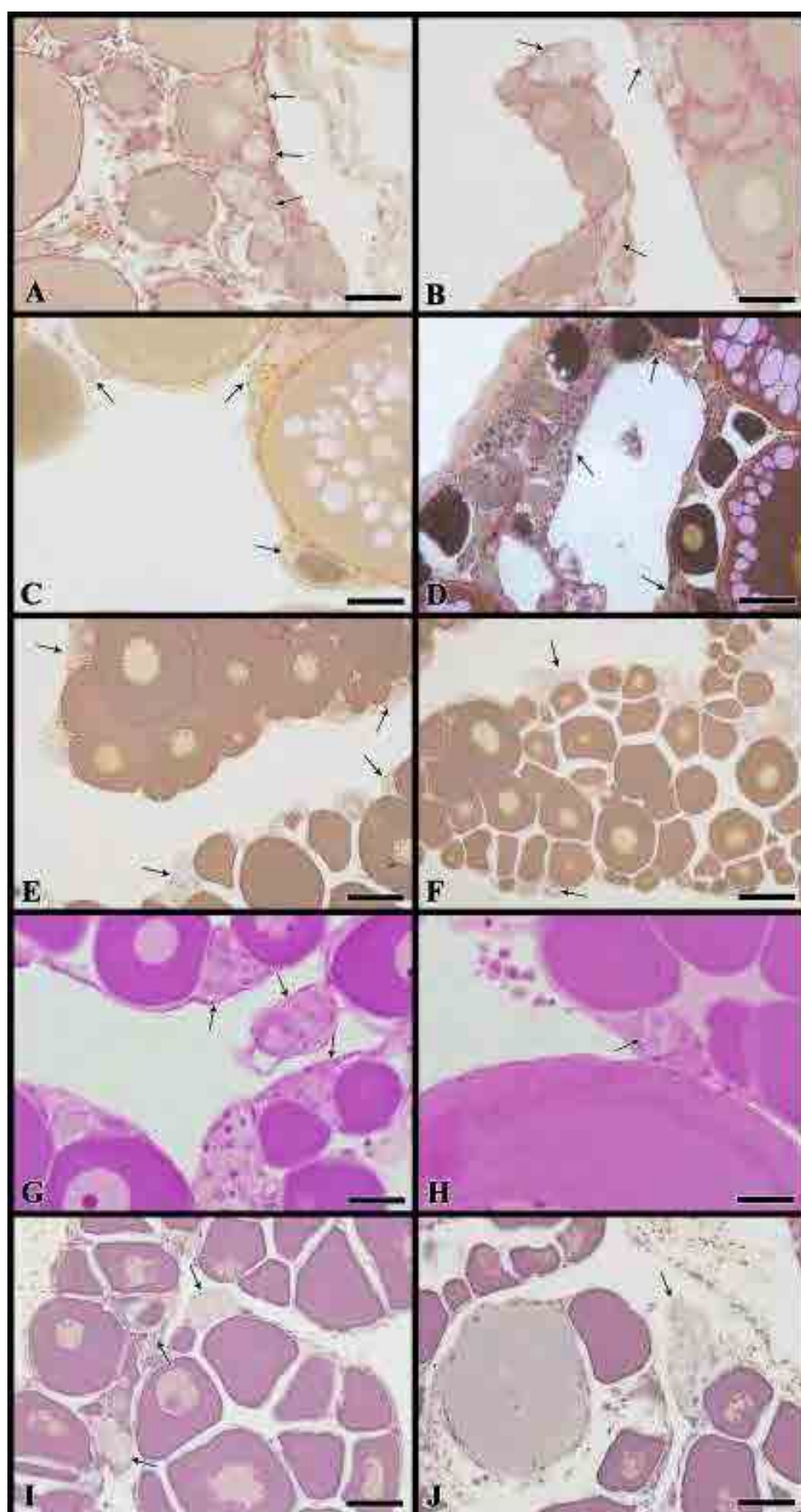


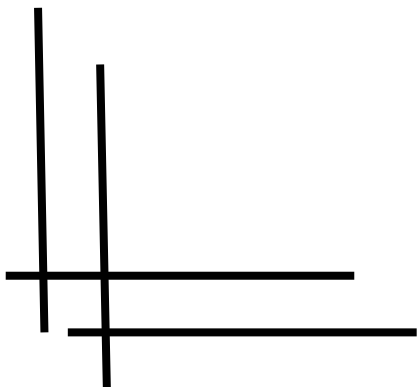
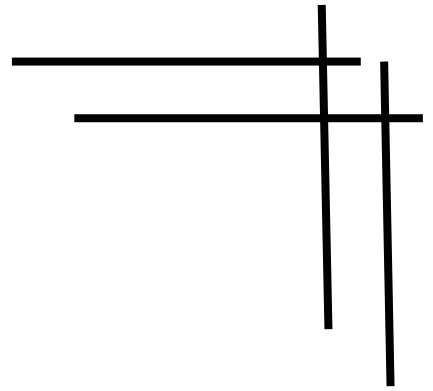
Figura 28. Proliferação das Células Germinativas em Fêmeas. **A-B:** *Cichla temensis* **C-D:** *Gymnotus* sp. **E-F:** *Hoplias malabaricus*. **G-H:** *Sorubim lima*. **I-J:** *Tanichthys albonubes*.

Assim como em machos, a fase em que a proliferação mitótica das células germinativas é mais pronunciada é a Regeneração. Células somáticas (células epiteliais e pré-foliculares), envolvendo cistos de oogônias e/ou oócitos profásicos (**setas**) são observadas no epitélio germinativos das lamelas ovígeras, além de oócitos em crescimento primário.

Coloração: **A-F e I-J:** Hematoxilina Férrica/PAS/Metanil Yellow; **G-H:** Hematoxilina Férrica/Eosina.

Escala: **A:** 16,67µm; **B:** 16,67µm; **C:** 33,33µm; **D:** 57,14µm; **E:** 33,33µm; **F:** 50µm; **G:** 8,33µm; **H:** 8,33µm; **I:** 15,38µm; **J:** 15,38µm.





Discussão

1. Estrutura Gonadal

1.1. Machos

Das cinco espécies analisadas, em *Cichla temensis*, *Hoplias malabaricus*, *Sorubim lima* e *Tanichthys albonubes*, observou-se que, como na maioria dos Teleostei, os testículos apresentam-se como órgãos pares, posicionados longitudinalmente na região dorsal da cavidade abdominal, com a porção caudal das gônadas confluindo em um ducto único que desemboca na papila urogenital, localizada ventro-caudalmente (Le Gac & Loir, 1999). A orientação das gônadas masculinas de *Gymnotus* sp., diferentemente das demais espécies analisadas, posicionam-se ventralmente na cavidade abdominal e a papila urogenital abre-se ventro-cranialmente. Essa disposição das gônadas é semelhante no Pleuronectiformes *Solea senegalensis* (Garcia-Lopez *et al.*, 2005).

A organização testicular segue o arranjo típico descrito para espécies de grupos derivados e basais. *C. temensis* (Perciformes) apresenta testículos lobulares, enquanto nas demais espécies, pertencentes à série Otophysi (superodem Ostariophysi), os testículos possuem estrutura tubular anastomosada (Grier, 1993). Em *S. lima*, como ocorre em geral nos bagres, incluindo os da família Pimelodidae, os testículos não apresentam a superfície lisa. Franjas ou dobras são observadas ao longo de toda a extensão dos órgãos reprodutivos masculinos (Santos *et al.*, 2001; Lopes *et al.*, 2004). Apesar do aspecto franjado, a organização testicular, tubular anastomosada, segue o arranjo comum a grupos basais (Grier, 1981).

1.2. Fêmeas

Em fêmeas de *C. temensis*, *H. malabaricus*, *S. lima* e *T. albonubes*, como na maioria dos Teleostei, os ovários são órgãos pares, posicionados longitudinalmente na região dorsal da cavidade abdominal, presos a parede do corpo pelo mesovário, com a porção caudal das gônadas confluindo em um oviducto único que desemboca na papila urogenital, localizada ventro-caudalmente (Selman & Wallace, 1986). Em *Gymnotus* sp., a gônada feminina é ímpar com a extremidade cefálica bilobada e a papila urogenital está localizada na região ventro-cranial.

Em todas as espécies analisadas, os ovários são saculiformes e do tipo cistovariano, como ocorre na maioria dos Teleostei. Diferentemente dos mamíferos, são cavitários, com o lúmen contínuo com o oviducto que desemboca na papila urogenital. Externamente, são constituídos pela túnica albugínea (cápsula), a partir da qual lamelas ovígeras projetam-se em direção ao lúmen (Nagahama, 1983; Selman & Wallace, 1986; Connaughton & Aida, 1998).

2. O Epitélio Germinativo

2.1. Machos

2.1.1. Desenvolvimento das Células Germinativas Masculinas

Os testículos organizam-se em dois compartimentos: o compartimento intersticial e o compartimento germinativo. Assim como nos vertebrados e demais Teleostei, nas espécies analisadas, o compartimento germinativo apresenta-se na forma de lóbulos/túbulos, revestidos pelo epitélio germinativo organizado em cistos de células germinativas de desenvolvimento sincrônico. O epitélio germinativo, ao longo do ciclo reprodutivo, varia de contínuo a descontínuo, de acordo com a liberação do componente germinativo no lúmen dos lóbulos/túbulos, decorrente do processo de espermatogênese e espermiogênese (Grier e Taylor, 1998; Taylor *et al.*, 1998; Lo Nostro, 2000; Grier, 2002).

A morfologia, distribuição e organização das células da linhagem espermatogênica, das células de Sertoli e das células de Leydig, em todas as espécies, são semelhantes às descrições relatadas para a maioria dos teleósteos (Pudney, 1995; Nóbrega, 2009; Schulz, 2010). As espermatogônias indiferenciadas, maiores células da linhagem germinativa, são responsáveis pela auto-renovação do componente germinativo do epitélio. Estas sofrem divisões e diferenciam-se em espermatogônias do tipo A ou diferenciadas, que apresentam morfologia similar às indiferenciadas, sendo distinguidas por organiza-se em grupos, enquanto que as espermatogônias indiferenciadas permanecem isoladas no epitélio. Espermatogônias do tipo A proliferam e diferenciam-se em espermatogônias diferenciadas do tipo B, que entram em meiose, iniciando a espermatogênese. Quanto à distribuição espermatogonial, em todas as espécies foi do tipo irrestrito, sendo encontradas espermatogônias por toda a extensão dos testículos. Ao longo do processo de espermatogênese, as células podem ser reconhecidas pela organização da cromatina e pela dimensão celular quando comparadas entre si. Espermatócitos em leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e em metáfase I e II comumente podem ser visualizados. As espermátides, resultantes dessas divisões, são as menores células presentes no epitélio germinativo e com o maior grau de compactação da cromatina. Elas ainda podem ser classificadas em espermátides iniciais, intermediárias e finais. Como resultado da espermiogênese, espermatozóides são liberados no lúmen dos lóbulos/túbulos seminíferos e, como consequência desse processo o epitélio torna-se descontínuo nessa região. Segundo Grier (2002), a continuidade ou descontinuidade do epitélio germinativo pode ser utilizada como critério para definir as classes/fases reprodutivas nos machos.

2.2. Fêmeas

2.2.1. Foliculogênese

Nas fêmeas de peixes, ao contrário do que ocorre em mamíferos e aves, e de forma similar aos machos, os ovários produzem células germinativas ilimitadamente durante a vida reprodutiva (Tyler & Sumpter, 1996). Devido a essa característica, o epitélio germinativo é dito ativo (Grier, 2000, 2002). Nos últimos anos, o processo de foliculogênese vem sendo elucidado (Grier *et al.*, 2007; Grier *et al.*, 2009). No entanto, esses dados concentram-se em espécies marinhas derivadas e apenas recentemente têm sido disponibilizados para grupos basais, caso dos peixes de água doce pertencentes à superordem Ostariophysi (França *et al.*, 2010; Mazzoni *et al.*, 2010; Quagio-Grassiotto *et al.*, 2011).

No presente estudo, durante a foliculogênese, fenômeno crucial do processo de renovação do epitélio permanentemente ativo das fêmeas dos peixes, não houve divergências quanto à caracterização morfológica das células entre as espécies analisadas. A foliculogênese parece ser um processo conservado entre grupos basais e derivados de Teleostei.

Durante os eventos iniciais da foliculogênese ocorre proliferação mitótica e diferenciação de oogônias indiferenciadas, células-tronco do epitélio germinativo, responsáveis por sua auto-renovação. Essas células encontram-se no epitélio germinativo, envoltas por células epiteliais, apoiadas sobre a membrana basal. Resultantes das divisões das oogônias indiferenciadas, formam-se os ninhos de células germinativas, compostos por oogônias do tipo A, envoltas por células agora denominadas pré-foliculares. As oogônias do tipo A podem permanecer isoladas e quiescentes no ninho ou sofrer divisões, diferenciando-se em oogônias do tipo B que formam cistos de desenvolvimento sincrônico. Dessa forma, mais de um tipo celular pode estar contido no ninho, mas em cada cisto somente um tipo celular está presente, devido à presença de pontes citoplasmáticas que promovem o desenvolvimento sincrônico das células. Dentro do cisto, as oogônias do tipo B entram em meiose, originando oócitos profásicos. As diferentes fases da prófase podem ser distinguidas pelo padrão de compactação da cromatina e basofilia nuclear em: leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno. Oócitos leptotênicos são fortemente basofílicos e apresentam um nucléolo conspicuo. No zigóteno, o núcleo adquire aspecto granular, devido ao pareamento dos cromossomos homólogos e início da formação dos complexos sinaptonêmicos. No paquíteno inicial, o conteúdo nuclear apresenta aspecto filamentososo em decorrência da formação dos complexos sinaptonêmicos. No paquíteno tardio, ocorre o desarranjo dos complexos sinaptonêmicos e os cromossomos posicionam-se próximos ao envelope nuclear. Nessa fase ocorre a

individualização das células contidas no cisto, pelas células foliculares. Dessa forma, tem-se a formação do folículo, constituído pelo oócito envolto pelas células foliculares, apoiadas sobre a membrana basal. No diplóteno inicial, os folículos recém-formados deixam o ninho. Durante o diplóteno é possível visualizar os cromossomos bivalentes, decorrente da ausência dos complexos sinaptonêmicos e separação dos cromossomos homólogos, além de um anel basofílico contornando internamente o envelope nuclear, resultante da condensação de rRNA. No diplóteno tardio, um ou mais nucléolos tornam-se visíveis próximos à região interna do envelope nuclear e observa-se o aumento da basofilia citoplasmática.

2.2.2. Desenvolvimento Oocitário

Durante a oogênese ocorrem eventos sequenciais de desenvolvimento e maturação dos folículos ovarianos, desde o crescimento primário, passando pelo crescimento secundário, maturação oocitária final até a liberação do oócito no lúmen do ovário.

A oogênese em peixes já foi vastamente estudada. No entanto, um esquema comparativo que reúna os estágios de desenvolvimento oocitário em grupos basais e derivados de Teleostei ainda é necessário a fim de disponibilizar dados que possam ser aplicados às diferentes espécies de peixes. França *et al.* (2010) determinaram um esquema nesses moldes, utilizando como modelo experimental uma espécie da ordem Gymnotiformes, representante dos grupos basais de Ostariophysi, e dados da literatura sobre o desenvolvimento oocitário em grupos derivados de peixes marinhos. No presente estudo, adicionalmente, pretendeu-se traçar um paralelo entre as quatro ordens da série Otophysi (Superordem Ostariophysi) e um representante de Perciformes de água doce. Os Perciformes têm maior ocorrência nos mares e oceanos. Os peixes de água doce dessa ordem são considerados secundários, identificados como um grupo de espécies que evoluiu a partir de grupos marinhos (Feldberg *et al.*, 2003).

Ao longo do desenvolvimento oocitário das espécies analisadas, modificações estruturais nas células foliculares, zona radiata, alvéolos corticais, grânulos/glóbulos de vitelo e gotas de lipídio, determinam divergências inter-específicas. Essas alterações representam importantes adaptações ecológicas e comportamentais relacionadas à reprodução (Fishelson & Gon, 2008).

As células foliculares apresentaram-se pavimentosas durante os estágios iniciais do desenvolvimento oocitário, variando entre as espécies, de pavimentosas a colunares ou prismáticas durante a vitelogênese. Em *Cichla temensis*, assim como descrito por Normando *et al.* (2009) em *Cichla kelberi*, células colunares ou prismáticas são encontradas no pólo

vegetal do oócito, tornando-se gradativamente mais baixas no pólo animal, próximo à micrópila. Em oócitos vitelogênicos de Teleostei, esse arranjo das células foliculares próximas à micrópila é comumente encontrado, e elas estão envolvidas na excreção de proteínas funcionais nessa região. As células foliculares do pólo vegetal, por outro lado, estão envolvidas na secreção de substâncias relacionadas à adesividade dos oócitos (Rizzo *et al.*, 2002), importante para a fixação dos ovos demersais e aderentes de *C. temensis*.

A micrópila das cinco espécies em estudo apresentou forma de funil, similar a salmonídeos e truta (Groot & Alderdice, 1985), sendo também o tipo mais freqüente relatado na literatura (Hart, 1990; Guraya, 1996).

A zona radiata forma uma monocamada de polissacarídeos neutros no início do crescimento primário de todas as espécies analisadas, assim como em muitos teleósteos (Bazzoli & Rizzo, 1990). Em *H. malabaricus*, *S. lima* e *C. temensis*, a zona radiata é dupla no estágio de formação dos alvéolos corticais e início da vitelogênese, com a camada externa mais delgada e PAS positiva e a camada interna com conteúdo protéico, enquanto em *Gymnotus* sp. e *T. albonubes*, ela permanece como uma monocamada de conteúdo protéico. Essa constituição da camada interna é homóloga à zona pelúcida de mamíferos (Murata *et al.*, 1997; Scapigliati *et al.*, 1999). Coward *et al.* (2002) expõe que espécies com camada interna da zona radiata espessa podem desovar em uma variedade de substratos devido à proteção mecânica que essa camada confere aos oócitos. Estriações transversais ao longo da zona radiata são observadas em todas as espécies, assim como relatado por Rizzo *et al.* (2002) e Martins *et al.* (2009).

Os alvéolos corticais, estruturas relacionadas ao bloqueio da polispermia durante a fertilização dos oócitos, mostrou padrão histoquímico e morfológico variável entre as espécies, variando em relação à composição, polissacarídica neutra ou ácida, e à estrutura, pequenos ou volumosos, com uma ou duas camadas, contínuos ou descontínuos. Bazzoli & Godinho (1994), analisando 102 espécies de diferentes famílias, incluindo as ordens aqui estudadas, relatam que padrões histoquímicos e morfológicos dos alvéolos corticais não estão aparentemente relacionados à filogenia. Apenas espécies do mesmo gênero ou família tendem a apresentar similaridades quanto à composição química e à morfologia dos alvéolos corticais, independentemente do habitat.

Após o início da formação dos alvéolos corticais e deposição de vitelo em oócitos de *Cichla temensis*, pequenas vesículas lipídicas aparecem no citoplasma próximo ao núcleo, aumentando em número e tamanho, pela fusão das vesículas em gotas de óleo, que

permanecem como estruturas individualizadas no citoplasma. No final da vitelogênese observa-se a fusão de algumas gotas de óleo. Segundo Grier *et al.* (2009), evidências indicam que em teleósteos de água doce e marinhos que produzem ovos demersais, os alvéolos corticais aparecem antes das gotas de óleo, assim como observado em *C. temensis*.

A ordem entre a deposição de vitelo e a formação de outras inclusões citoplasmáticas na maioria dos teleósteos está relacionada à vida reprodutiva, podendo ser afetada por condições nutricionais ou metabólicas (Grier *et al.*, 2009). No presente estudo, detectou-se o aparecimento dos alvéolos corticais antes do início da deposição de grânulos de vitelo em *T. albonubes*; concomitante ao início de deposição de vitelo, em *C. temensis*, *Gymnotus* sp. e *H. malabaricus*; e após o início da deposição de vitelo em *S. lima*.

Em espécies de grupos derivados, como em Perciformes marinhos pelágicos, no final da vitelogênese, há um aumento das células foliculares devido à hidratação dos oócito, relacionada à flutuabilidade dos ovos e hidrólise das proteínas vitelínicas (Grier *et al.*, 2009). Variações desses mecanismos podem ocorrer (Cerdá *et al.* 2007), como é o caso da truta arco-íris, peixe de água doce que produz ovos demersais, sem que haja hidrólise das proteínas vitelínicas (Milla *et al.* 2006). Em espécies que produzem ovos demersais, de acordo com Greeley *et al.* (1986), pouca ou nenhuma hidratação detectável está associada com a hidrólise do vitelo durante a maturação. Em *C. temensis* observou-se hidrólise parcial dos glóbulos de vitelo, na maturação oocitária final, sem detecção de hidratação das células foliculares. Segundo LaFleur *et al.* (2005), após a retomada da meiose, na maturação oocitária final, a vitelogenina é enzimaticamente processada. Uma proteólise secundária pronunciada ocorre em peixes marinhos que desovam ovos pelágicos, promovendo alterações osmóticas que facilitam a hidratação dos oócitos e, conseqüentemente, a flutuabilidade dos ovos (Matsubara *et al.*, 1999; Finn *et al.*, 2002a; Finn, 2007b). Em espécies marinhas e de água doce que desovam ovos bentônicos, a proteólise secundária é limitada e a hidratação modesta (Finn *et al.*, 2002b; LaFleur *et al.*, 2005), assim como observado em oócitos de *Cichla temensis*.

A liberação do oócito maduro no lúmen ovariano promove a formação dos complexos foliculares pós-ovulatórios, compostos pelas camadas externas à zona pelúcida. Eventos degenerativos dos complexos foliculares pós-ovulatórios e, principalmente, de oócitos vitelogênicos, associados à presença de macrófagos e granulócitos, foram observados em todas as espécies analisadas, assim como relatado por Miranda *et al.* (1999).

Resultante das análises ao longo do desenvolvimento oocitário, verificou-se que muitas estruturas oocitárias são similares entre os grupos analisados, sejam da série Otophysi

ou dos Perciformes, enquanto as divergências seguem um padrão aparentemente não relacionado à filogenia entre ordens diferentes, mas às estratégias reprodutivas das espécies individualmente, assim como descrito por outros autores (Bazzoli & Rizzo, 1990; Bazzoli & Godinho, 1994; Rizzo *et al.*, 1998), exceto quanto à formação de gotas de óleo e tênue proteólise do vitelo, que podem ser utilizados como critério de distinção entre grupos basais e derivados (Selman & Wallace, 1989; Tyler & Sumpter, 1996; Patiño & Sullivan, 2002).

3. Terminologias

A implementação de um sistema de classificação padronizado para determinar as fases reprodutivas dos machos e fêmeas é necessário a fim de permitir uma melhor comunicação entre os pesquisadores da área ictiológica. Dessa forma, estudos comparativos de espécies de diferentes localidades, dos mais diversos grupos e estratégias reprodutivas poderiam ser viabilizados.

Numerosas terminologias vêm sendo empregadas ao longo dos anos. No entanto, apesar das divergências de nomenclatura, muitas características descritas para cada fase apresentam similaridades. Dessa forma, neste estudo, teceu-se um paralelo entre a classificação de Vazzoler (1996) para as fases reprodutivas dos machos e fêmeas e as classificações propostas por Grier e colaboradores (Taylor *et al.*, 1998; Brown Peterson *et al.*, 2002; Grier, 2002) e também para a proposta de Brown-Peterson e seus colaboradores (2007-2011).

De acordo com os resultados obtidos, e em concordância com a proposta de Brown Peterson *et al.* (2011), que é a mais recente tentativa de dissolver as variações terminológicas existentes, providenciando uma terminologia aplicável a diferentes espécies, com diferentes táticas reprodutivas, é possível inferir que variantes entre as classificações tradicionais podem ser correlacionadas e adaptadas a uma definição terminológica padrão, assim como verificado no presente estudo com peixes da série Otophysi, e aplicados a elasmobrânquios em um recente estudo elaborado por Serra-Pereira *et al.* (2011).

4. Análise Macroscópica, Microscópica e Biométrica

De acordo, com dados obtidos para machos e fêmeas de *Cichla temensis* e *Hoplias malabaricus*, a determinação macroscópica dos estádios maturacionais em gônadas femininas apresentou menor índice de erro de diagnóstico em relação às gônadas masculinas, quando

confirmado por análise histológica. Alterações estruturais ovarianas pronunciadas durante o ciclo reprodutivo podem ser fatores determinantes desse diagnóstico diferencial.

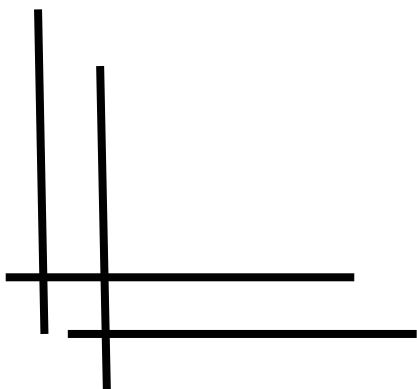
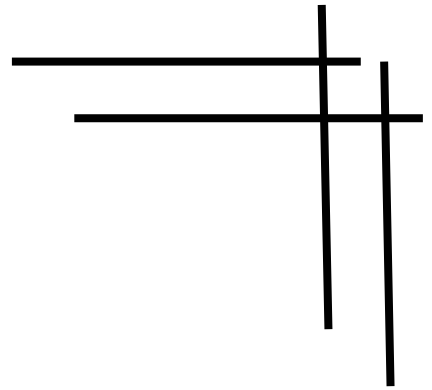
Segundo Vazzoler (1996) o índice gonadosomático (IGS), associado a análises histológicas, pode servir como indicador da atividade reprodutiva dos peixes. Na análise biométrica, obtida pelo cálculo do índice Gonadosomático (IGS), comparada à análise microscópica, para machos e fêmeas de *C. temensis*, *Gymnotus* sp., *H. malabaricus* e *S. lima*, houve, em geral, uma correlação positiva entre o IGS e dados histológicos. Em *T. albonubes*, em razão do pequeno porte da espécie e da representatividade da gônada em relação ao peso total, o IGS não expressou corretamente as fases reprodutivas ao longo dos meses.

A determinação do período reprodutivo das espécies fornece importante informação para análises populacionais e sua duração constitui um dado importante para a estratégia de manutenção da espécie (Barbieri & Barbieri, 1988). A maioria das espécies mostra uma periodicidade em seu processo reprodutivo, iniciando o desenvolvimento gonadal em uma época anterior a da reprodução, e completando sua maturação no momento em que as condições ambientais forem adequadas à fecundação e ao desenvolvimento da prole (Vazzoler, 1996), podendo, entretanto variar de um ano para outro de acordo com as variações abióticas (Vazzoler *et al.*, 1997).

5. Proliferação das células germinativas

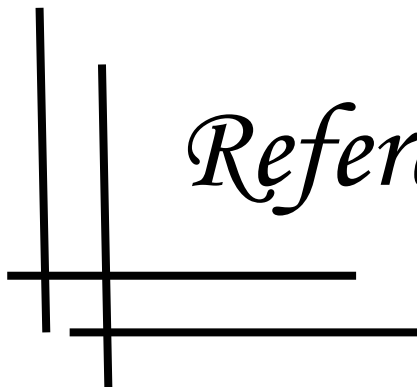
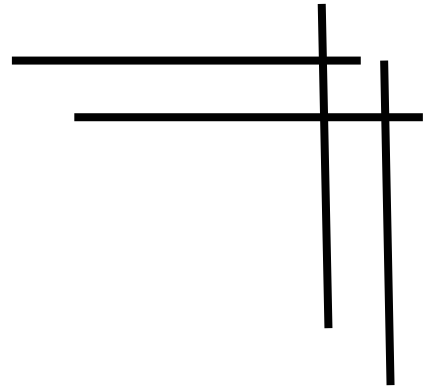
Em fêmeas e machos dos peixes, a proliferação de células germinativas e somáticas no epitélio germinativo permanentemente ativo é responsável pela auto-renovação do componente germinativo das gônadas (Grier *et al.*, 2009).

De acordo com análises histológicas, em machos e fêmeas das espécies analisadas, a proliferação das células germinativas ocorre ao longo de todo o ciclo reprodutivo, iniciando-se ao final da regressão, sendo mais expressiva ao longo da fase de Regeneração e ocorrendo em menor escala nas fases seguintes, assim como observado por Amorim (2007).



Conclusões

- A espermatogênese e a foliculogênese são processos conservados entre os Teleostei. Não são observadas distinções morfológicas relevantes entre os estágios de desenvolvimento das células germinativas masculinas, assim como dos eventos iniciais da foliculogênese em fêmeas.
- A proliferação das células germinativas masculinas e femininas, espermatogônias e oogônias, assim como das células somáticas, ocorre durante todo o ciclo reprodutivo, iniciando-se na regressão, sendo mais intensa na fase de Regeneração e apresentando menores índices nas fases subsequentes.
- A maioria dos eventos morfológicos durante o desenvolvimento oocitário é similar entre grupos basais e derivados, notadamente os da série Otophysi quando comparados a Perciformes de água doce. Os Perciformes de água doce divergem dos grupos basais, com relação ao desenvolvimento oocitário, por duas características: a presença de inclusões lipídicas, que surgem no citoplasma perinuclear após o início da formação dos alvéolos corticais e deposição de vitelo; e por uma tênue proteólise do vitelo durante a maturação final. Essas características são comuns a grupos derivados marinhos. No entanto, em Perciformes de água doce, não ocorre hidratação das células foliculares, a proteólise expressiva do vitelo e nem fusão das gotas de lipídeo em um glóbulo único.
- As características histoquímicas variam entre as espécies, não demonstrando evidências de relação filogenética entre as ordens.
- O arranjo testicular segue o arranjo típico: lobular em grupos derivados (Perciformes) e tubular anastomosado em grupos basais (Characiformes, Cypriniformes, Gymnotiformes e Siluriformes).
- Em fêmeas, a morfologia gonadal é similar entre as espécies de peixes. Os ovários são órgão saculiformes e cavitários, à diferença dos mamíferos, presos à parede dorsal pelo mesovário.
- O Índice Gonadosomático, em geral, representa corretamente o período reprodutivo das espécies, exceto em espécies de pequeno porte.
- As classificações dos estádios/classes/fases reprodutivas podem ser correlacionados e adaptáveis a diferentes espécies, com diferentes estratégias reprodutivas, incluindo peixes neotropicais de grupos basais e Perciformes de água doce.



Referências Bibliográficas

- ABRAHAM, M.; HILGE, V.; LISON, S.; TIBIKA, H. The cellular envelope of oocytes in teleosts. **Cell Tissue Res.**, v.235, p.403-410, 1984.
- ALBERT, J.S.; CRAMPTON, W.G.R. Seven new species of the Neotropical Electric fish *Gymnotus* (Teleostei: Gymnotiformes) with redescription of *G. carapo* (Linnaeus). **Zootaxa**, v.287, p.1-54, 2003.
- AMORIM, J.P.A. **Foliculogênese e caracterização celular das classes reprodutivas em *Pimelodus maculatus* (Siluriformes: Pimelodidae)**. 2007. 109f. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista – Campus Botucatu, SP, 2007.
- BARBIERI, G.; BARBIERI, M.C. Fecundidade e tipo de desova de *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 na represa do Lobo, estado de São Paulo (Pisces, Gymnotidae). **Spectrum: Jornal Brasileiro de Ciência**, v.2, n.7, p.25-29, 1982.
- BARBIERI, G.; BARBIERI, M.C. Dinâmica da reprodução de *Gymnotus carapo* na represa do Lobo, estado de São Paulo. Influência de fatores abióticos (Pisces, Gymnotidae). **Tropical Ecology**, v.24, n.2, p.244-259, 1983a.
- BARBIERI, G.; BARBIERI, M. C. Growth and first sexual maturation size of *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 in the Lobo reservoir (state of São Paulo, Brazil) (Pisces: Gymnotidae). **Revue d'Hydrobiologie Tropicale**, v.16, n.2, p.195-201, 1983b.
- BARBIERI, G.; BARBIERI, M.C. Crescimento de *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 na represa do Lobo, estado de São Paulo, pelo método da distribuição da frequência de comprimento (Pisces, Gymnotidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.44, n.3, p.239-246, 1984a.
- BARBIERI, M.C.; BARBIERI, G. Reprodução de *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 na represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de testículo. Variação sazonal. (Pisces, Gymnotidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.44, n.2, p.141-148, 1984b.
- BARBIERI, G.; BARBIERI, M.C. Note on nutritional dynamics of *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 from the Lobo reservoir, São Paulo State, Brazil. **Journal of Fish Biology**, v.24, p.351-355, 1984c.
- BARBIERI, M.C.; BARBIERI, G. Reprodução de *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 na represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia do ovário. Variação sazonal. (Teleostei, Gymnotidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.45, n.1/2, p.3-12, 1985.
- BARBIERI, G., SANTOS, E.P. Análise comparativa do crescimento e de aspectos reprodutivos da piava, *Leporinus friderici* (Bloch, 1794) da represa do Lobo e do rio Mogi-Guaçu, estado de São Paulo. **Ciência e Cultura**, n.40, p.693-697, 1988.

- BAZZOLI, N.; GODINHO, H. P. Cortical alveoli in oocytes of freshwater neotropical teleost fish. **Bolletino di Zoology**, v. 61, p. 301-308, 1994.
- BAZZOLI, N.; RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of the oogenesis in ten Brazilian teleost fish species. **European Archives of Biology**, v.101, p.399-410, 1990.
- BENNET, M.V.L. Elettric organs. In : **ACADEMIC PRESS**. Hoa, W. S. & Randall, D. J. 1971. New York, p. 347-484, 1971.
- BILLARD, R. Spermatogenesis and spermatology of some Teleost fish species. **Reprod. Nutr. Develop.**, v.26, p.877-920, 1986.
- BLAZER, V.S. Histopathological assessment of gonadal tissues in wild fishes. **Fish Physiol. Biochem.**, v.9, p.51-62, 2002.
- BROMAGE, N.R.; CUMARANATUNGA, P.R.T. Oocyte development in the rainbow trout with special reference to vitellogenesis and atresia. In: **PROC. THIRD INT. SYMP. REPRODUCTIVE PHISIOLOGY OF FISH**. Idler, D.; Crim, L. & Walsh, J., eds. St. John's, Newfoundland, Canada: Memorial University Press, 1987. p.194.
- BROMAGE, N.R.; CUMARANATUNGA, P.R.T. Egg production in rainbow trout. In: **RECENT ADVANCES IN AQUACULTURE**. Muir, J. F. and Roberts, J. R., eds. London and Sydney: Croom Helm, 1988. p. 65-138.
- BROWN-PETERSON, N.J.; GRIER, H.J.; OVERSTREET, R.M. Annual changes in germinal epithelium determine male reproductive classes of the cobia. **Journal of Fish Biology**, v.60, p.178-202, 2002.
- BROWN-PETERSON, N.J.; WYANSKI, D.M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B.J.; LOWERRE-BARBIERI, S.K. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries**, v.3, n.1, p.52-70.
- CAMPOS-DA-PAZ, R. Family Gymnotidae. In: **CHECKLIST OF THE FRESHWATER FISHES OF SOUTH AND CENTRAL AMERICA** (Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, C. J. eds.), Porto Alegre: Edipucrs., 2003. p. 483-486.
- CARAMASCHI, E.P.; GODINHO, H.M. Reprodução de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) na represa do rio Pardo (Botucatu-SP). Histologia e escala de maturação do ovário. **Rev. Brasil. Biol.**, v.42, n.3, p.635-640, 1982.
- CERDÁ, J.L.; FABRA, M.; RALDÚA, D. Physiological and molecular basis of fish oocyte hydration. In: P. J. Babin, J. Cerdá and E. Lubzens (eds), **The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Application**. Springer. 2007. Dordrecht: The Netherlands, p 349-396.

- COGNATO, D.P.; FIALHO, C.B. Reproductive biology of a population of *Gymnotus aff. carapo* (Teleostei: Gymnotidae) from southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.4, p.339-348, 2006.
- CONNAUGHTON, M.A.; AIDA, K. Female reproductive system, fish. In: Krobil, E.; Neill, J. D. (ed.). **Encyclopedia of Reproduction**. San Diego, Academic Press. 1998. p. 193-205.
- COWARD, K.; BROMAGE, N.R.; HIBBITT, O.; PARRINGTON, J. Gametogenesis, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews of Fish Biology and Fisheries**, v.121, p.33–58, 2002.
- CRAMPTON, W.G.R.; HOPKINS, C.D. Nesting and paternal care in the weakly electric fish *Gymnotus* (Gymnotiformes: Gymnotidae) with descriptions of larval and adult electric organ discharges of two species. **Copeia**, v.2005, n.1, p.48-60, 2005.
- CURTIS, C.C.; STODDARD, P.K. Mate preference in female electric fish, *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. **Animal Behaviour**, v.66, p.329-336, 2003.
- DEFALCO, T., & CAPEL, B. Gonad morphogenesis in vertebrates: divergent means to a convergent end. **Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.**, v.25, p.457-482, 2009. doi: 10.1146/annurev.cellbio.042308.13350.
- FELDBERG, E.; PORTO, J.I.R.; BERTOLLO, L.A.C. Chromosomal Changes and adaptation of Cichlid fishes during evolution, 285-308. In: VAL, A.L., Kapoor, B.G. **Fish Adaptations**. Science Publishers, INC. New Dehli & New York. 2003. 418p.
- FINK, S.V.; FINK, W.L. Interrrelationships of the ostariophysan fishes (Teleostei). **Zoological Journal of Linnean Society**, v.72, n.4, p.297-353, 1981.
- FINN, R.N. The maturational disassembly and differential proteolysis of paralogous vitellogenins in a marine pelagophil teleost: A conserved mechanism of oocyte hydration. **Biol. Reprod.**, v.76, p.936–948, 2007.
- FINN, R.N.; ØSTBY, G.C.; NORBERG, B.; FYHN, H.J. *In vivo* oocyte hydration in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*); proteolytic liberation of free amino acids, and ion transport, are driving forces for osmotic water influx. **J. Exp. Biol.**, v.205, p.211-224, 2002a.
- FINN, R.N.; WAMBOLDT, M.; FYHN, H.J. Differential processing of yolk proteins during oocyte hydration in fishes (*Labridae*) that spawn benthic and pelagic eggs. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v.237, p.217-226, 2002b.

- FISHELSON, L.; GON, O. Comparative oogenesis in cardinal fishes (Apogonidae, Perciformes), with special focus on the adaptative structures of the egg envelopes. **Environ. Biol. Fish**, v.81, p.397-414, 2008.
- FOTLAND, A.; BORGE, A.; GJSÆTER, H.; MJANGER, H. Handbok for prøvetaking av fisk. **Institute of Marine Research**, Bergen, v.3, n.1, p.1–130, 1995.
- FOWLER, H.W. Os peixes de água doce do Brasil. **Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo**, v.6, n.2, p.205-404, 1950.
- FRANÇA, G.F.; GRIER, H.J.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. A new vision of the origin and the oocyte development in the Ostariophysi applied to *Gymnotus* sp. (Teleostei: Gymnotyformes). **Neotr. Ichthyol.**, v.8, n.4, p.787-804, 2010.
- FERRERI, R.; BASILONE, G.; D'ELIA, M.; TRAINA, A.; SABORIDO-REY, F.; MAZZOLA, S. Validation of macroscopic maturity stages according to microscopic histological examination for European anchovy. **Marine Ecology**, v.30, suppl. 1, p.181–187, 2009.
- FREYHOF, J.; HERDER, F. *Tanichthys micagemmae*, a new miniature cyprinid fish from Central Vietnam (Cypriniformes: Cyprinidae). **Ichthyol. Explor. Freshw.**, v.12, p.215–220, 2001.
- GARCIA-LOPEZ, A.; MARTINEZ-RODRIGUEZ, G.; SARASQUETE, C. Male reproductive system in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup): anatomy, histology and histochemistry. **Histol. Histopathol.**, v.20, p.1179-1189, 2005.
- GIORA, J. Biologia reprodutiva e hábito alimentar de *Eigenmannia trilineata* López e Castello, 1966 (Teleostei, Sternopygidae) do Parque Estadual de Itapuã, Rio Grande do Sul, Brasil. Unpublished Ms. C. Thesis. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 91 p, 2004.
- GODOY, M. P. **Peixes do Brasil – Subordem Characoidei. Bacia do rio Mogi Guassu.** Editora Franciscana, Piracicaba, 4o vol., 1975. p. 400-440.
- GONÇALVES, T.L.; BAZZOLI, N.; BRITO, M.F.G. Gametogenesis and reproduction of the matrinxã *Brycon orthotaenia* (Günther, 1864) (Pisces: Characidae) in the São Francisco river, Minas Gerais, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v.66, n.2, p.513-522, 2006.
- GRAÇA, W.J.; PAVANELLI, C.S. **Peixes da planície de inundação do Alto Rio Paraná e áreas adjacentes.** Maringá: EDUEM, 2007.

- GREELEY, M.S.; CALDER, D.R.; WALLACE, R.A. Changes in teleost yolk protein during oocyte maturation: correlation of yolk proteolysis with oocyte hydration. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.84B, p.1-9, 1986.
- GRIER, H.J. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **Amer. Zool.**, v.21, p.345-357, 1981.
- GRIER, H.J. Chordate testis: the extracellular matrix hypothesis. **J. Exp. Zool.**, v.261, p.151-162, 1992.
- GRIER, H.J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. In: **THE SERTOLI CELL**, (Russel, L. D. & Griswold, M. D., eds.), Clearwater: Cache River Press., 1993. p.704-730.
- GRIER, H.J. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the Common Snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei: Centropomidae). **Journal Morphology**, v.243, p. 265-281, 2000.
- 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: **PROCEEDINGS OF THE FIFTY-THIRD ANNUAL GULF AND CARIBBEAN FISHERIES INSTITUTE** (Creswell, R. L. ed.) November 2000. Fort Pierce: Mississippi/Alabama Sea Grant Consortium. pp. 537-552.
- GRIER, H.J.; LO NOSTRO, F. The germinal epithelium in fish gonads: the unifying concept. In: Norberg, B.; Kjesbu, O.S.; Taranger, G.L.; Andersson, E.; Stefansson, S.O. editors. **Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish**. Norway: University of Bergen. 2000. p.233-236.
- GRIER, H.J.; TAYLOR, R.G. Testicular maturation and regression in the common snook. **Journal of Fish Biology**, v.53, p.521-542, 1998.
- GRIER, H.J.; URIBE, M.C. The testis and spermatogenesis in teleosts. In: **REPRODUCTIVE BIOLOGY AND PHYLOGENY OF FISHES (AGNATHANS AND BONY FISHES). PHYLOGENY REPRODUCTIVE SYSTEM VIVIPARITY SPERMATOOZOA**. Jamieson, B.J.M. (Ed): St. Lucia: Science Publishers, 2009. p.119-142.
- GRIER, H.J.; URIBE, M.C.; PARENTI, L.R. Germinal Epithelium, Folliculogenesis, and Postovulatory Follicles in Ovaries of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Teleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes). **Journal of Morphology**, v.268, p.293-310, 2007.

- GRIER, H.J.; URIBE-ARANZÁBAL, M.C.; PARENTI, L.R.; DE LA ROSA-CRUZ, G. Fecundity, the germinal epithelium, and folliculogenesis in viviparous fishes. In: Uribe M, Grier HJ, editors. **VIVIPAROUS FISHES**. St. Petersburg: New Life Publication. 2005. p 191-216.
- GRIER, J.H.; URIBE-ARANZÁBAL, M.C.; PATIÑO, R. The ovary, folliculogenesis and oogenesis in teleosts. In: Jamieson BJM, editor. **REPRODUCTIVE BIOLOGY AND PHYLOGENY OF FISHES (AGNATHANS AND BONY FISHES) PHYLOGENY REPRODUCTIVE SYSTEM VIVIPARITY SPERMATOOZOA**. Enfield: Science Publishers, 2009. p 25-84.
- GROOT, E.P.; ALDERDICE, D.F. Fine structure of the external egg membrane of five species of Pacific salmon and steelhead trout. **Canadian Journal of Zoology**, v.63, p.552-566, 1985.
- GURAYA, S.S. Recent advances in the functional morphology of follicular wall, egg-surface components, and micropyle in the fish ovary. In: Munshi, J. S. D.; Dutta, H. M (Ed.) **FISH MORPHOLOGY – HORIZON OF NEW RESEARCH**, 1996. p.114-144.
- HA, C.R.; LUCHI, I. Participation of a metalloprotease in the fertilization-associated conversion of the egg envelope (chorion) of the fish, *Oryzias latipes*. **Dev. Growth Differ.**, v.38, p.509-516, 1996.
- HART, N.H. Fertilization in teleost fishes: mechanism of sperm – egg interactions. **International Review of Cytology**, v.121, p.1-66, 1990.
- IWAMATSU, T.; SHIBATA, Y.; KANIE, T. Changes in chorion proteins induced by exudate released from the egg cortex at the time of fertilization in the teleost, *Oryzias latipes*. **Dev. Growth Differ.**, v.37, p.747-759, 1995.
- KAGAWA, H.; TANAKA, H.; OKUZAWA, K.; KOBAYASHI, K. GTH II but not GTH I induces final maturation and the development of maturational competence of oocytes of red seabream *in vitro*. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v.112, p.80-88, 1998.
- KIRSCHBAUM, F. Reproduction of the weakly electric fish *Eigenmannia virescens* (Rhamphichthyidae, Teleostei) in captivity. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.4, p.331-355, 1979.
- KIRSCHBAUM, F.; SCHUGARDT, C. Reproductive strategies and developmental aspects in mormyrid and gymnotiform fishes. **Journal of Physiology**, v.96, p.557-566, 2003.
- KIRSCHBAUM, F.; WIECZOREK, L. Entdeckung einer neuen Fortpflanzungs-strategie bei südamerikanischen Messerfischen (Teleostei: Gymnotiformes: Gymnotidae):

- Maulbrüten bei *Gymnotus carapo*. **Verhalten der Aquarienfische**, v.2, p.99-107, 2002.
- KJESBU, O.S. 1991. A simple method for determining the maturity stages of Northeast arctic cod (*Gadus morhua* L.) by in vitro examination of oocytes. **Sarsia**, v.75, p.335–338.
- KOTTELAT, M. **Freshwater fishes of northern Vietnam. A preliminary check-list of the fishes known or expected to occur in northern Vietnam with comments on systematics and nomenclature**. The World Bank, Washington, 2001.
- KULLANDER, S.O.; NIJSSEN, H. **The cichlids of Surinam: Teleostei: Labroidei**. E. J. Brill, Leiden, 1989. 256p.
- LAFLEUR, G.J. JR.; RALDÚA, D.; FABRA, M.; CARNEVALI, O.; DENSLOW, N.; WALLACE, R.A.; CERDÀ, J. Derivation of major yolk proteins from parental vitellogenins and alternative processing during oocyte maturation in *Fundulus heteroclitus*. **Biol. Reprod.**, v.73, p.815-824, 2005.
- LE GAC, F.; LOIR, M. Male reproductive system, fish. In: Knobil E, Neill Jd (eds). **ENCYCLOPEDIA OF REPRODUCTION**. San Diego: Academic Press, 1999. v.3, p.20-30.
- LE MENN, F. ; CERDA, J. ; BABIN, P.J. Ultrastructural aspects of the ontogeny and differentiation of ray-finned fish ovarian follicles. In: Babin PJ, Cerdà J, Lubzens E. editors. **THE FISH OOCYTE: FROM BASIC STUDIES TO BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS**. Dordrecht: Springer, 2007. p.1-37.
- LESSMAN, C.A. Oogenesis, in nonmammalian vertebrates. In: **ENCYCLOPEDIA OF REPRODUCTION**. (Knobil, E. & Neil, J. D. eds.), San Diego: Academic Press, 1998, v.3, p.20-30.
- LO NOSTRO, F.L.; GRIER, H.J.; MEIJIDE, F.J.; GUERRERO, G.A. Ultrastructure of the testis in *Synbranchus marmoratus* (Teleostei, Synbranchidae): the germinal compartment. **Tissue & Cell**, v.35, p.121–132, 2003.
- LOPES, D.C.J.R.; BAZZOLI, N.; BRITO, M.F.G.; MARIA, T.A. Male reproductive apparatus in the South American catfish *Conorhynchus conirostris*. **J. Fish Biol.**, v.64, p.1419-1424, 2004.
- MARTINS, Y.S.; DE MOURA, D.F.; SANTOS, G.B.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Comparative folliculogenesis and spermatogenesis of four teleost fish from a Reservoir in south-eastern Brazil. *Acta Zoológica*, 2009. no. doi:10.1111/j.1463-6395.2009.00437.x

- MATSUBARA T.; OHKUBO, N.; ANDOH, T.; SULLIVAN, C.V.; HARA, A. Two forms of vitellogenin, yielding two distinct lipovitellins, play different roles during oocyte maturation and early development of barfin flounder, *Verasper moseri*, a marine teleost that spawns pelagic eggs. **Dev. Biol.**, v.213, p.18-32 1999.
- MATTEI, X.; SIAU, Y.; THIAW, O.T.; THIAM, D. Peculiarities in the organization of testis of *Ophidion sp.* (Pisces, Teleostei). Evidence for two types of spermatogenesis in teleost fish. **J. Fish. Biol.**, v.43, p.931-937, 1993.
- MAZZONI, T.S.; GRIER, H.J.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Germline cysts and the formation of the germinal epithelium during female morphogenesis in *Cyprinus carpio* (Teleostei: Ostariophysi: Cypriniformes). **Anat. Rec.**, v.293, p.1581–1606, 2010.
- MCMILLAN, D.B. **Fish Histology: Female Reproductive Systems**. Springer, 2007, 598p.
- MILLA, S.; JALABERT, B.; RIME, H.; PRUNET, P.; BOBE, J. Hydration of rainbow trout oocyte during meiotic maturation and in vitro regulation by 17,20{beta}-dihydroxy-4-pregnen-3-one and cortisol. **J. Exp. Biol.**, v.209, Pt.6, p.1147-56, 2006
- MIRANDA, A.C.L.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SATO, Y. Ovarian follicular atresia in twoteleost species: a histological and ultrastructural study. **Tissue&Cell**, v.31, n.5, p.480-488, 1999.
- MUNÕZ, H.; VAN DAMME, P.A.; DUPONCHELLE, F. Breeding behaviour and distribution of the tucunaré *Cichla aff. monoculus* in a clear water river of the Bolivian Amazon. **Journal of Fish Biology**, v.69, p.1018–1030, 2006.
- MURATA, K.; SUGIYAMA, H.; YASUMASU, S.; IUCHI, I.; YASUMASU, I.; YAMAGAMI, K. Cloning of cDNA and estrogen-induced hepatic gene expression for choriogenic H, a precursor protein of the fish egg envelope (chorion). **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v.94, p.2050-2055, 1997.
- NAGAHAMA, Y. The functional morphology of teleost gonads. **Fish Physiology**, v.9, p.223-275, 1983.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; CAVICCHIOLI-MAKRAKIS, M.; PAVANELLI, C.S. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: EDUEM, 2001.

- NEJEDLI, S.; PETRINEC, S.; KUIR, E.; SREBOCAN, E. Annual Oscillation of Ovarian Morphology in European Pilchard (*Sardina pilchardus* Walbaum) in the Northern Adriatic Sea. **Veterinarski Arhiv.**, v.74, n.2, p.97-106, 2004.
- NELSON, J.S. **Fishes of the World**. New York, John Wiley & Sons, 3rd edition, 1994. 600p.
- NELSON, J.S. **Fishes of the World**. John Wiley & Sons, New Jersey, 4th edition, 2006. 601p.
- NÓBREGA, R.H. 2006. Alterações do epitélio germinativo masculino, células endócrinas testiculares e células gonadotrópicas durante o ciclo reprodutivo de *Serrasalmus spilopleura* (Kner, 1859) e *Pimelodus maculatus* (Lacepede, 1803). Tese (Mestrado). Instituto de Biologia, Universidade Federal de Campinas. Campinas, SP. 185p.
- NÓBREGA, R.H.; BATLOUNI, S.R.; FRANÇA, L.R. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. **Fish Physiol. Biochem.**, v.35, p.197–206, 2009.
- NORMANDO, F.T.; ARANTES, F.P.; LUZ, R.K.; THOME, R.G.; RIZZO, E.; SATO, Y.; BAZZOLI, N. Reproduction and fecundity of tucunaré, *Cichla kelberi* (Perciformes: Cichlidae), an exotic species in Três Marias Reservoir, Southeastern Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v.25, p.299–305, 2009.
- PARENTI, L.R.; GRIER, H.J. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. **Integr. Comp. Biol.**, v.44, p.333-348, 2004.
- PATÍÑO, R.; YOSHIZAKI, G.; THOMAS, P.; KAGAWA, H. Gonadotropic control of ovarian follicle maturation: the two-stage concept and its mechanisms. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.129B, p.427-439, 2001.
- PATÍÑO, R.; SULLIVAN, C.V. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.26, p.57-70, 2002.
- PATZNER, R.A. Morphology of the male reproductive system of *Coralliozetus angelica* (Pisces, Blennioidei, Chaenopsidae) **J. Fish Biol.**, v.39, p. 867-872, 1991.
- PUDNEY, J. Leydig and Sertoli Cells, Nonmammalian. In: Knobil, E., & J.D. Neill (Eds). **Encyclopedia of Reproduction**. Academic Press: San Diego, 1998. p.1008-1020.
- PUDNEY, J. Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. **Microsc. Res. Tech.**, v.6, p.459-497, 1995.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; GRIER, H.J.; MAZZONI, T.S.; NÓBREGA, R.H. & AMORIN, J.P.A. Activity of the ovarian germinal epithelium in the freshwater catfish, *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes): Germline cysts, follicle

- formation and oocyte development. *Journal of Morphology*, DOI: 10.1002/jmor.10981, 2011.
- REDDING, J.M.; PATIÑO, R. Reproductive physiology. In: **THE PHYSIOLOGY OF FISHES**. Evans, D. H. CRC Press, 1993. p.503-534.
- RIZZO, E.; MOURA, T.F.C.; SATO, Y.; BAZZOLI, N. Oocyte surface in four teleosts fish species postspawning and fertilization. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.41, n.1, p.37-48, 1998.
- RIZZO, E.; SATO, Y.; BARRETO, B.P.; GODINHO, H.P. Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. **Journal of Fish Biology**, v.61, p.615–632, 2002.
- RYAN, R.J. Some speculations of biochemical marks and mechanisms. In: **DYNAMICS OF OVARIAN FUNCTION**. Schwartz, N. B. And Hunziker-Dunn, M., eds. New York: Plenum Press, 1981. p.1-12.
- SAIDAPUR, S.K. Follicular atresia in ovaries of non-mammalian vertebrates. **Int. Rev. Cytol.**, v.54, p.225-244, 1978.
- SANTOS, G.M.; MÉRONA, B.; JURAS, A.A.; JÉGU, M. **Peixes do baixo Rio Tocantins: 20 anos depois da Usina Hidrelétrica Tucuruí**. Brasília: Eletronorte, 2004. 216 p.
- SCAPIGLIATI, G.; MELONI, S.; MAZZINI, M. A monoclonal antibody against chorion proteins of the sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758): studies of chorion precursors and applicability in immunoassays. **Biology of Reproduction**, v.60, p.783–789, 1999.
- SCHULZ, R.W.; FRANÇA, L.R.; LAREYRE, J.J.; LE GAC, F.; CHIARINI-GARCIA, H.; NÓBREGA, R.H.; MIURA, T. Spermatogenesis in fish. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v.165, p.390-411, 2010.
- SCHULZ, R.W. Endocrine regulation of spermatogenesis in teleost fish. **ARBS Annu. Rev. Biomed. Sci.**, v.5, p.57-68, 2003.
- SCHULZ, R.W.; MIURA, T. Spermatogenesis and its endocrine regulation. **Fish. Physiol. Biochem.**, v.26, p.43-56, 2002.
- SELMAN, K.; WALLACE, R.A. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. **Am. Zool.**, v.26, p.73-192, 1986.
- SELMAN, K.; WALLACE, R.A. Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. **Journal of Electron Microscopy Technique**, v.16, p.175-201, 1989.

- SELMAN, K.; WALLACE, R.A.; SARKA, Q.I.X. Stages of oocyte development in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. **J. Morph.**, v.218, p.203-224, 1993.
- SERRA-PEREIRA, B.; FIGUEIREDO, I.; GORDO, L.S. Maturation of the Gonads and Reproductive Tracts of the Thornback Ray *Raja clavata*, with Comments on the Development of a Standardized Reproductive Terminology for Oviparous Elasmobranchs. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, v.3, p.160–175, 2011
- SHIBATTA, O.A.; BOCKMANN, F.A. Família Pimelodidae. In: BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. (Ed.). **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. p. 109-113.
- SHIROKOVA, M.Y. Peculiarities of the sexual maturation of females of the Baltic cod, *Gadus morhua callarias*. **Journal of Ichthyology**, v.17, p.574–581, 1977.
- SILVA, A.; QUINTANA, L.; GALEANO, M.; ERRANDONEA, P. Biogeography and breeding in Gymnotiformes from Uruguay. **Environmental Biology of Fishes**, v.66, p.329-338, 2003.
- SIVERTSEN, E. Torskens gytning. **FiskeriDirektoratets Skrifter, serie HavUndersøkelser**, v.4, p.1–29, 1935.
- SOROKIN, V.P. Ovogenesis and sexual cycle in cod (*Gadus morhua morhua* L.). **Trudy PINRO**. v.10, p.125–144, 1957. (in Russian) (English translation No. 72F49, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, UK, 1961).
- STIFANI, S.; LE MENN, F.; RODRIGUEZ, J.N.; SCHEIDER, W.J. Regulation of oogenesis: the piscine receptor for vitellogenin. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1045, p.271-279, 1990.
- TAYLOR, R.G.; GRIER, H.J.; WHITTINGTON, J.A. Spawning rhythms of common snook in Florida. **J. Fish Biol.**, v.53, p.502-520, 1998.
- TELES, M.E.O.; GODINHO, H.P. Ciclo reprodutivo da pirambeba *Sertrasalmus brandtii* (Teleostei: Characidae) na represa de Três Marias, Rio São Francisco. **Revista Brasileira de Biologia**, v.57, p.177-184, 1997.
- TEMPLEMAN, W.; HODDER, V.M.; WELLS, R. Sexual maturity and spawning of haddock, *Melanogrammus aeglefinus*, at the southern Grand Bank. **ICNAF Research Bulletin**, v.13, p.52–66, 1978.

- TOMKIEWICZ, J.; TYBJERG, L.; JESPERSEN, A. Micro- and macroscopic characteristics to stage gonadal maturation of female Baltic cod. **Journal of Fish Biology**, v.62, p.253–275, 2003.
- TYLER, C.R. Vitellogenesis in salmonids. In: **PROC. FOURTH INT. SYMP. REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF FISH**. Scott, A. P.; Sumpter, J. P.; Kime, D. E. & Rolfe, J.; eds. Sheffield, UK: Sheffield University Press, , 1991. p.295-299.
- TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Oocyte growth and development in teleosts. **Reviews in Fisheries Biology**, v.6, p.287-318, 1996.
- VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes Teleósteos. Teoria e Prática**. Maringá: EDUEM, 1996.169p.
- VAZZOLER, A.E.M.M.; SUZUKI, H.I.; MARQUES, E.E.; LIZAMA, M.A.P. Primeira maturação gonadal, períodos e áreas de reprodução. In: A. E. A. M. Vazzoler, A. A. Agostinho & N. S. Hahn (eds.), **A PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ: ASPECTOS FÍSICOS, BIOLÓGICOS E SOCIOECONÔMICOS**. EDUEM, Maringá, 1997. p. 249-265.
- WALLACE, R.A.; SELMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. **Am. Zool.**, v.21, p.325–343, 1981.
- WALLACE, R.A.; BOYLE, S.M.; GRIER, H.J.; SELMAN, K.; PETRINO, T.R. Preliminary observations on oocyte maturation and other aspects of reproductive biology in female snook, *Centropomus undecimalis*. **Aquaculture**, v.116, p.257-273, 1993.
- WINEMILLER, K.O. Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environments. **Oecologia**, v.81, p.225-241, 1989.
- WINEMILLER, K.O. Ecology of peacock cichlids (*Cichla* spp.) in Venezuela. **Journal of Aquariculture and Aquatic Sciences**, v.9, p.93–112, 2001.
- YARAGINA, N.A. Biological parameters of immature, ripening, and non-reproductive, mature northeast Arctic cod in 1984–2006. – **ICES Journal of Marine Science**, v.67, p.2033–2041, 2010.
- YUE, P.Q.; CHEN, Y.Y. Pisces. In: *Wang S.* **CHINA RED DATA BOOK OF ENDANGERED ANIMALS**. Beijing: Science Press, 1998. p.68-70.
- ZARET, T.M. Life history and growth relationships of *Cichla ocellaris*, a predatory south american cichlid. **Biotropica**, v.12, n.2, p.144-157, 1980.