



**MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓSGRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
CURSO DE DOUTORADO EM ZOOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GONADAL DE MACHOS E FÊMEAS DE PESCADA
BRANCA (*Plagioscion squamosissimus*, HECKEL, 1840) (PISCES, TELEOSTEI,
SCIAENIDAE), NO RIO PARÁ (PA)**

JOSÉ NAZARENO CUNHA NEGRÃO

Tese aprovada pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Curso de Doutorado, do Convênio Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Otávio Mitio Ohashi

Belém-PA

2006

JOSÉ NAZARENO CUNHA NEGRÃO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GONADAL DE MACHOS E FÊMEAS DE PESCADA
BRANCA (*Plagioscion squamosissimus*, HECKEL, 1840), (PISCES, TELEOSTEI,
SCIAENIDAE), NO RIO PARÁ (PA)**

**Tese aprovada pelo Programa de Pós-
Graduação em Zoologia, Curso de Doutorado,
do Convênio Museu Paraense Emílio Goeldi e
Universidade Federal do Pará, como requisito
parcial para a obtenção do título de Doutor
em Zoologia.**

Orientador: Prof. Dr. Otávio Mitio Ohashi

Belém, PA

2006

JOSÉ NAZARENO CUNHA NEGRÃO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GONADAL DE MACHOS E FÊMEAS DE
Plagioscion squamosissimus (HECKEL, 1840), (PISCES, TELEOSTEI,
SCIAENIDAE), NO RIO PARÁ (PA)**

Tese aprovada pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Curso de Doutorado, do Convênio Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor.

COMISSÃO EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Otávio Mitio Ohashi (Presidente)
Departamento de Biologia - UFPA

Prof. Dr. Antônio Marcos Orsi (Titular)
Departamento de Anatomia - UNESP

Profa. Dra. Flávia Lucena Frédou (Titular)
Departamento de Geologia - UFPA

Profa. Dra. Diva A. de Araújo Guimarães (Titular)
Departamento de Histologia - UFPA

Prof. Dr. Ronaldo B. Brarthem (Titular)
Departamento de Zoologia – MPEG

Profa. Dra. Rossineide M. da Rocha (Titular)
Departamento de Histologia – UFPA

Profa. Dra. Rosemar Silva Luz (1ª Suplente)
Departamento de Histologia – UFPA

Belém, ____ de _____ de 2006

Negrão, J.N.C.

Avaliação da atividade gonadal de machos e fêmeas de pescada branca, *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840), (PISCES, TELEOSTEI, SCIAENIDAE) no rio Pará (PA), 126p, 2006. Tese (Doutorado em Zoologia). Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém, PA.

Orientador: Dr. Otávio Mitio Ohashi.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi.

*As verdadeiras vitórias não são feitos individuais,
mas sim, frutos do incentivo e cooperação daqueles que
compartilham sonhos e ideais comuns a muitos,
mas que são confiados a alguns ou a um único ser.*

DEDICATÓRIA

À Mara, Bruno e Nicolas: o brilho de meu olhar, o dizer sem falar.

A graça do meu sorriso, a paz que preciso;

A riqueza de meus bens, ou melhor, os meus grandes bens.

Em vocês, encontrei forças e motivação para

a concretização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Otávio Mitio Ohashi, pela orientação que se iniciou em minha

graduação e que foi imprescindível para a contemplação deste trabalho de doutoramento. Estimo-o como pessoa e como profissional, e saiba que os sedentos de sabedoria buscam os sábios, logo, você foi um importante conselheiro e fonte de sábias informações para a minha pessoa.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao programa de Pós-graduação em Zoologia do curso de Doutorado do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará.

À coordenação do Curso de Zoologia, nas pessoas da Dra. Teresa Ávila-Pires, Dra. Maria Cristina Esposito e Dra. Ana Harada pela oportunidade da realização e conclusão deste trabalho.

À Dorotea, secretária do Curso de Zoologia, pela incomensurável demonstração de amizade, profissionalismo e prestatividade nos assuntos burocráticos inerentes ao curso.

Aos professores do Curso de Zoologia, pelo conhecimento que proporcionaram a minha formação profissional.

À Dra. Rosemar Silva Luz pela constante atenção e informações iluminadas.

Aos colegas de Curso de Zoologia pelos agradáveis momentos de convivência.

Aos pescadores e moradores da Ilha do Capim (PA), pela hospitalidade e concessão de informações valiosas para a realização deste estudo.

Ao pescador Marileu Rocha pela grande ajuda prestada para coleta de material.

Aos meus pais Manoel e Joaquina e irmãos, pela confiança e motivação.

A Deus, minha inesgotável fonte de perseverança e auto-estima. Não importa o tamanho do exército que tenhamos que enfrentar, mas sim as forças que temos ao nosso favor.

A todos que, de alguma forma, colaboraram positivamente para finalização deste trabalho, meu muito obrigado.

SUMÁRIO

RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	32
2.1 Objetivos gerais	32
2.2 Objetivos específicos	32
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Área de estudo	33
3.1.1 Fatores abióticos do rio Pará, na região Sul/Sudeste da ilha do Capim, no período de fevereiro de 2003 a fevereiro de 2004	34
3.1.2 Atividade pesqueira no rio Pará, na região Sul/Sudeste da ilha do Capim	35
3.2 Coleta dos espécimens na área de estudo	35
3.2.1 Verificação do comprimento e peso dos espécimes	36
3.3 Escala de maturidade gonadal	36
3.3.1 Gônadas em repouso	37
3.3.2 Gônadas em maturação	37
3.3.3 Gônadas maduras	37
3.3.4 Gônadas esvaziadas ou semi-esvaziadas	38
3.4 Coleta do sêmen dos espécimes sexualmente maduros	38
3.4.1 Morfologia do espermatozóide	39
3.5 Processamento histológico das gônadas para inclusão em parafina	39

3.5.1	Dissecação e fixação dos testículos e ovários para análise microscópica.....	39
3.5.2	Corte, coloração e observação do material em microscopia de Luz	40
3.6	Análise da variação temporal da relação gonadossomática (Δ RGS) em machos e fêmeas de <i>P. squamosissimus</i>	40
3.7	Quantificação e mensuração das células da linhagem espermatogênica	42
3.8	Caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES) na pescada, com base na associação celular presente nos cistos no interior dos túbulos seminíferos	42
4	RESULTADOS	44
4.1	Fatores abióticos do rio Pará, na área que corresponde à região Sul/Sudeste da ilha do Capim.....	44
4.2	Observações da atividade pesqueira no rio Pará (região Sul/Sudeste da ilha do Capim).....	44
4.2.1	Observação do tipo de aparelho utilizado na pesca de <i>P. squamosissimus</i> .	46
4.2.2	Tipo de embarcação utilizada para a pesca de <i>P. squamosissimus</i>	47
4.2.3	Uso de embarcações motorizadas nas atividades pesqueiras	48
4.2.4	Análise do tempo destinado à atividade pesqueira de <i>P. squamosissimus</i> nos últimos 15 (quinze) anos no rio Pará	49
4.3	Localização de ovários na cavidade celomática da pescada	49
4.4	Análises macro e microscópica da escala de maturação gonadal de fêmeas .	51
4.4.1	Ovários em repouso.....	51
4.4.2	Ovários em maturação	53
4.4.2.1	Ovários em maturação inicial	53
4.4.2.2	Ovários em maturação final	55

4.4.3 Ovários maduros	56
4.4.4 Ovários esvaziados	59
4.5 Localização de testículos na cavidade celomática da pescada	60
4.6 Análises macro e microscópica da escala de maturação gonadal de machos.	61
4.6.1 Testículos em repouso	62
4.6.2 Testículos em maturação	62
4.6.2.1 Testículos em maturação inicial	63
5.6.2.2 Testículos em maturação final	64
4.6.3 Testículos maduros	66
4.6.4 Testículos esvaziados ou parcialmente esvaziados	67
4.7 Quantificação da espermatogênese no período de fevereiro de 2004 a fevereiro de 2005	68
4.8 Análise histomorfométrica da população de células germinativas masculinas	72
4.8.1 Espermatogônias primárias	72
4.8.2 Espermatogônias secundárias	73
4.8.3 Espermatócitos	74
4.8.4 Espermatídes	75
4.8.5 Espermatozóides	77
4.8.6 Células de Sertoli	78
4.9 Estádios do ciclo do epitélio seminífero na <i>P. squamosissimus</i>	79
4.9.1 Estádio 1 do ciclo do epitélio seminífero	79
4.9.2 Estádio 2 do ciclo do epitélio seminífero	80
4.9.3 Estádio 3 do ciclo do epitélio seminífero	81

4.9.4 Estádio 4 do ciclo do epitélio seminífero	82
4.9.5 Estádio 5 do ciclo do epitélio seminífero	83
4.9.6 Estádio 6 do ciclo do epitélio seminífero	84
4.9.7 Estádio 7 do ciclo do epitélio seminífero	85
4.9.8 Estádio 8 do ciclo do epitélio seminífero	86
5 DISCUSSÃO	87
5.1 Atividade pesqueira.....	87
5.2 Ovários	89
5.3 Testículos	92
6 CONCLUSÕES	107
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fotografia de <i>P. squamosissimus</i>	29
Figura 2 – Área de coleta de material biológico	33
Figura 3 – Organização estrutural do ovário	50
Figura 4 – Fotomicrografia de ovário em estágio de repouso	51
Figura 5 – Fotomicrografia de ninho de oogônias	52
Figura 6 – Fotomicrografia de um oócito previtelogênico ou oócito II	52
Figura 7 – Fotomicrografia de um oócito em vitelogênese lipídica (oócito III)	54
Figura 8 – Fotomicrografia de um ovário em maturação final	56
Figura 9 – Fotomicrografia de um ovário maduro	57
Figura 10 – Valores mensais da Δ RGS em fêmeas	58
Figura 11 – Fotomicrografia de um ovário esvaziado (pós-desova)	59
Figura 12 – Fotomicrografia de um ovário esvaziado (pós-desova)	60
Figura 13 – Fotomicrografia da organização estrutural do testículo	61
Figura 14 – Fotomicrografia de cistos de espermatogônias secundárias de um testículo em repouso	62
Figura 15 – Fotomicrografia de um testículo em maturação inicial	63
Figura 16 – Fotomicrografia de um testículo em maturação final	64
Figura 17 – Fotomicrografia mostrando detalhes do ducto espermático.....	65
Figura 18 – Fotomicrografia de um testículo maduro	66
Figura 19 – Fotomicrografia de testículos esvaziados ou parcialmente esvaziados .	67
Figura 20 – Fotomicrografia do ducto espermático esvaziado ou pós-desova	67
Figura 21 – Valores percentuais de espermatogônias primárias e secundárias,	

espermatócitos, espermátides, espermatozóides e células de Sertoli...	69
Figura 22 – Correlação linear de Pearson entre valores percentuais de espermatozóides e $\Delta RGS_{\text{♂}}$	70
Figura 23 – Valores mensais da $\Delta RGS_{\text{♂}}$ ao longo de um ciclo reprodutivo	71
Figura 24 – Fotomicrografia de um espermatogônia primária	72
Figura 25 – Fotomicrografia de cistos de espermatogônias secundárias	73
Figura 26 – Fotomicrografia de cistos de células germinativas no interior de túbulos seminíferos (detalhe para os cistos de espermatócitos)	74
Figura 27 – Fotomicrografia de um túbulo seminífero contendo cistos de células germinativas (detalhe para os cistos de espermátides iniciais e finais) ..	75
Figura 28 – Fotomicrografia de túbulos seminíferos com cistos de espermátides em final de diferenciação ou espermátides finais.....	76
Figura 29 – Esfregaço de espermatozóides de <i>P. squamosissimus</i>	77
Figura 30 – Fotomicrografia de um cisto de espermatogônias secundárias sendo delimitado pelos prolongamentos citoplasmáticos da célula de Sertoli .	78
Figura 31 – Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 1 do CES	79
Figura 32 – Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 2 do CES	80
Figura 33 – Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 3 do CES	81
Figura 34 – Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 4 do CES	82
Figura 35 – Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 5 do CES	83
Figura 36 – Fotomicrografia de túbulos seminíferos no estágio 6 do CES	84
Figura 37 – Fotomicrografia de túbulos seminíferos no estágio 7 do CES	85
Figura 38 – Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 8 do CES	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALBRÁS	Alumínio do Brasil
ALUNORTE	Alumínio do Norte
CES	Ciclo do Epitélio Seminífero
FAO	“Food and Agriculture Organization of the United Nations”
HE	Hematoxilina-Eosina
Δ RGs	Variação Temporal da Relação Gonadossomática
TCD	Tecido Conjuntivo Denso
TE	Tecido Epitelial
UFPA	Universidade Federal do Pará
WHO	World Health Organization

Negrão, J. N. C. Avaliação da atividade gonadal de machos e fêmeas de pescada branca, *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (Pisces, Teleostei, Sciaenidae), no rio Pará (PA). 2006. 125p. Tese (Doutorado em Zoologia)- Museu Paraense Emílio Goeldi & Universidade Federal do Pará.

RESUMO

Fêmeas e machos adultos de *P. squamosissimus* (Pisces, Teleostei, Sciaenidae) foram coletados mensalmente no Rio Pará, que banha a ilha do Capim (PA) (S 01° 34. 971'; W 048° 52.932'), durante o período de fevereiro de 2004 a fevereiro de 2005, correspondendo ao total de 234 espécimes. As gônadas foram coletadas, fixadas e processadas de acordo com os métodos usuais utilizados para processamento em parafina e análise em microscopia de luz. A espécie em estudo é uma das principais fontes de proteína animal para a população local, sendo capturada de forma intensa e ininterrupta ao longo do ano. Com base em informações dos pescadores locais, essa captura parece estar determinando uma aparente diminuição quantitativa e qualitativa em seus estoques locais. A espécie apresenta desova parcelada e o desenvolvimento gonadal foi caracterizado nos estádios de repouso, maturação, maduro e esvaziado ou semi-esvaziado. Gônadas maduras foram encontradas nos meses de dezembro, janeiro e julho. A análise de correlação entre o estágio gonadal maduro e a variação temporal da relação gonadossomática (Δ RGS) indica também a ocorrência de desova nos respectivos meses. Não obstante, as informações obtidas da correlação entre a Δ RGS e a média de oócitos maduros e percentual de espermatozóides por túbulo seminífero, respectivamente, também indicaram haver desova nos respectivos meses, sendo que aparentemente a espécie apresenta uma desova mais intensa ou desova principal entre os meses de dezembro e janeiro (inverno), e outra desova menos intensa ou secundária no mês de julho (verão). Com base no método da morfologia tubular, foram determinados oito estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES), sendo que no estágio 1 os túbulos seminíferos são compostos por espermatogônias primárias e cistos de espermatogônias secundárias; o estágio 2 é composto por espermatogônias primárias e secundárias e cistos de espermatócitos; estágio 3 é caracterizado por espermatogônias primárias, secundárias, cistos de espermatócitos e de espermatídes jovens ou recém-formadas; estágio 4 com túbulos seminíferos caracterizados pela presença de espermatogônias primárias e secundárias, espermatócitos e por cistos de espermatídes jovens e tardias; estágio 5 apresenta todas as células anteriores e é marcado pelo surgimento de espermatozóides no lúmen tubular; estágio 6 tem como características a diminuição dos cistos de células germinativas e considerável aumento do número de espermatozóides no lúmen tubular; os túbulos seminíferos no estágio 7 contêm poucos cistos de células germinativas e se inicia o esvaziamento da massa de espermatozóides do lúmen tubular; estágio 8 é o último do CES e é caracterizado pela aparente desorganização dos cistos remanescentes de células germinativas no túbulo seminífero.

Palavras-chave: *P. squamosissimus*, histologia gonadal, quantificação, atividade gonadal, ciclo do epitélio seminífero.

Negrão, J. N. C. Assessment of gonad activity in the male and female of *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (Pisces, Teleostei, Sciaenidae), in the Para river (state of Para). 2006. 125p. Thesis (Doctorate in Zoology)-Emílio Goeldi Museum of Pará & The Federal University of Para.

ABSTRACT

Male and female adults of *P. squamosissimus* (Pisces, Teleostei, Sciaenidae) were collected monthly in the Para River that surrounds Capim island, state of Para (S 01° 34. 971' ; W 048° 52.932'), during the month of february 2004 to february 2005, having 234 specimes. The gonads were collected, mounted and processed in accordance with the standard methods of paraffin and analysis using a light microscope. The species under analysis is one of the principal sources of animal protein for the local population, fishing being uninterrupted and intensive throughout the year based on information given by local fisherman, the collection process appears to be determined by an apparent qualitative reduction in local stock. The species represents spawn divisions, the gonad development was characterized in state of repose, maturation, mature and empty or half-empty. Mature gonads were found on the months of december, january and july. Correlation analysis between the maturing state of gonads, seasonal variations in relation to gonadosomatic indexes (GSI) and also the occurrence of spawn in the respective months. Nevertheless, the information obtained in correlation to GSI and mature oocyte mediums and between spermatozoa percentages by seminiferous tubule, respectively, also indicate spawning in the respective months, and apparently that the species represents a more intensive spawning period or a primary spawning period between the months of december and january, and a second or less intensive spawning period in the months of july. Based on the tubular morphology method, eight of the seminiferous epithelium cycle stages (SEC) were determined, stage 1 being seminiferous tubule that are comprised of primary spermatogonia and cysts of the secondary spermatogonia; stage 2 is comprised of primary and secondary spermatogonia and spermatocytes cysts; stage 3 is characterized by primary and secondary spermatogonias, spermatocyte cysts and young spermatids; stage 4 with seminiferous tubule characterized by presence of spermatogonias primary and secondary, spermatocyte and by presence of young and later spermatids cysts; stage 5 represents all of the previously mentioned cells and is highlighted by presence of spermatozoa in the tubule lumen; stage 6 is characterized by reduction of cysts of germinative cells and a considerable increase in number of spermatozoa in the tubular lumen; stage 7 is characterized by seminiferous tubule that contain few cysts of germinative cells and is marked by the beginning of a mass emptying of spermatozoa of the tubule lumen; stage 8 is the last of the SEC and is characterized by the apparent disorganization of the remaining germinative cellular cysts in the seminiferous tubule.

Key-words: *P. squamosissimus*, gonadal histology, quantification, gonadal activity, seminiferous epithelium cycle.

INTRODUÇÃO

O peixe tem sido utilizado na alimentação da população humana desde o período paleolítico. No continente Sul-americano há indícios de consumo datados de 10.000 anos. No Brasil, os índios já faziam uso desta fonte de proteína, quando os portugueses aqui desembarcaram (LINHARES, 2003).

Dentro desse contexto, o potencial de oceanos, mares, rios e lagos é apresentado, por muitos pesquisadores, como o celeiro mundial, com múltiplas alternativas para o suprimento alimentar da população, visto que os peixes representam aproximadamente 51,1% dos vertebrados, englobando mais de 24.600 espécies que ocupam os mais diversos ambientes. Desse total, cerca de 23.400 espécies, ou seja, 96% delas são de Teleósteos. Dentre estes, os peixes de água doce apresentam 41% do total de espécies conhecidas (NELSON, 1984).

A ictiofauna dos rios da Amazônia é a mais rica do planeta (VERÍSSIMO, 1895). Segundo VAL & ALMEIDA-VAL (1995) existem cerca de 2.800 a 3.000 espécies de peixes na Bacia Amazônica.

Esses dados demonstram a grande necessidade, para nossa região, da utilização da ciência e tecnologia, tanto no que tange à conservação, bem como no que diz respeito ao manejo sustentável de diferentes espécies de nossa ictiofauna. A utilização dessas ferramentas, através do desenvolvimento

de estudos e a aplicação de técnicas, tende a propiciar a manutenção de estoques de grande relevância eco-sócio-econômica na região Norte.

Ainda nesse contexto, entidades internacionais, como o Banco Mundial e a UNESCO consideram o desenvolvimento econômico, justiça social e prudência ecológica, como o tripé para programas de desenvolvimento sustentável (CAVALCANTI, 1995).

Porém, tal sustentabilidade parece não existir quando o assunto é pesca extrativa, visto que na contínua busca pela captura de um número cada vez maior de peixes, a referida atividade aliada à degradação ambiental, aos poucos, afetou o equilíbrio de populações e deste modo os estoques naturais de águas continentais e dos mares que se constituíam na principal fonte de pescado tiveram sua capacidade de produção drasticamente limitada (ANDRADE & YASUI, 2003).

Dados da FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999; apud GONÇALVES, 2002*) demonstram que a produção de pescado, com base extrativista, vem se mantendo nos mesmos índices de encontrados no começo da década de 90, revelando que essa atividade, além de não ter mais como crescer, mantenha a tendência de diminuição. Quanto a essa tendência, os referidos dados revelam que no ano de 1996, a produção global de pescado oriundo da captura extrativa alcançou 93,5 milhões de toneladas. Não obstante no ano de 2001, esse número diminuiu para 91,3

milhões de toneladas. O referido órgão estima que no ano de 2025 a demanda pelo pescado será de 162 milhões de toneladas, inferindo que a produção extrativista não conseguirá suprir essa demanda, uma vez que se encontrará estagnada em torno de 85 milhões de toneladas. A referida entidade cita a piscicultura como uma importante alternativa para suprir essa diferença.

Alguns estudos têm demonstrado também que algumas espécies da ictiofauna amazônica parecem estar sofrendo uma redução em seus estoques em virtude de sua sobre-exploração (BARTHEM & PETRERE, 1995; ISAAC & RUFFINO, 1996). Somado a outros fatores, este problema pode levar a uma diminuição da oferta de pescado nos grandes centros da região. Isso pode vir a ser um agravante social, visto que tende a elevar o preço do pescado e conseqüentemente dificultar a aquisição, desta importante fonte de proteína animal, pela população de baixa renda.

Neste contexto ainda, a grande diversidade ictiofaunística da Região Amazônica, confere à piscicultura uma enorme quantidade de espécies com potencial zootécnico. Entretanto, ANDRADE & YASUI (2003) ressaltam que o elevado número de espécies no cultivo piscícola implica em uma grande plasticidade de características reprodutivas, o que pode fazer com que uma técnica de propagação bem sucedida em determinada espécie possa ter rendimento diferenciado em outra. Os mesmos autores entendem que se faz necessário o conhecimento das características da espécie a ser cultivada, tais como, época e local de desova, fisiologia reprodutiva, características físico-

químicas do ambiente, para que se possa manipular adequadamente a reprodução desses animais.

Quanto à espécie em estudo, VAL & HONCZARYK (1995) consideram a *Plagioscion squamosissimus* como uma das espécies amazônicas com potencial para o cultivo, relatando a excelente qualidade de sua carne, mas ressaltam que as técnicas para o cultivo desta espécie ainda não são conhecidas.

Estes dados revelam que na busca da manutenção de estoques pesqueiros de determinada espécie de relevância econômica e científica, como a pescada, se faz necessário o desenvolvimento de estudos, sobre o ciclo biológico da mesma. Tais estudos propiciam informações valiosas e imprescindíveis para o sucesso de futuros programas de conservação e manejo de determinadas espécies.

Assim sendo, se ressalta a importância de estudos que visem o conhecimento do ciclo biológico reprodutivo, em ambiente natural, de determinada espécie. Tal conhecimento proporciona informações valiosas sobre estratégias e táticas reprodutivas utilizadas pelas espécies de nossa ictiofauna, tais como, período reprodutivo, fecundidade, potencial reprodutivo, período de primeira maturação, tipo de desova, dentre outros. Essas informações são indubitavelmente de valor ímpar para programas de desenvolvimento sustentável, uma vez que servem como referenciais para programa de conservação e manejo de espécies.

Em relação a esses estudos, nas últimas décadas do século XX, contribuições importantes, sobre a biologia reprodutiva de peixes, foram realizadas (FOWLER, 1950; RASQUIN & HAFTER, 1951; HERDERSON, 1962; RASTOGI, 1968; De VLAMING, 1972; GRIER, 1975a, b, 1976; BHATTI & ALDAHAM, 1978; ANDRADE, 1980; BARBIERI *et al.*, 1981; GRIER, 1981; ANDRADE & GODINHO, 1983; BARBIERI & BARBIERI, 1984; AGOSTINHO *et al.* 1986; BILLARD, 1986; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1986/1987; AGOSTINHO *et al.*, 1987; BORGES, 1987; AZEVEDO *et al.*, 1988; ZANIBONI & REZENDE, 1988; VAZZOLER *et al.*, 1989; BILLARD, 1990; LIMA *et al.*, 1991; VAZZOLER & MENESES, 1992; AIRES, 1998; NEGRÃO, 1999; NEGRÃO *et al.*, 2002; QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2001). Contudo, os trabalhos histológicos sobre a avaliação gonadal que descrevem as diferentes fases pelas quais passam as células germinativas durante a gametogênese nos peixes amazônicos ainda são incipientes, dada a grande diversidade ictiofaunística da região (CHAVES & VAZZOLER, 1984; MATOS & AZEVEDO, 1989; VAZZOLER *et al.*, 1989; MATOS *et al.*, 1993;).

Quanto à aqueles estudos, são necessários estudos que se baseiem nos aspectos morfológicos das células gametogênicas de machos e fêmeas, bem como, na mensuração e quantificação dessas células, estabelecimento dos estádios de maturação gonadal e descrição do ciclo do epitélio seminífero (CES) de *P. squamosissimus*, afim de conhecer o período de desova e inferir o potencial reprodutivo de machos e fêmeas da espécie em ambiente natural.

1.1 Espermatogênese

No que diz respeito ao processo de formação dos gametas masculinos de animais, o mesmo é denominado de espermatogênese, sendo definido como o conjunto de divisões e diferenciações nos quais células-tronco (espermatogônias), da linhagem germinativa, originam células altamente especializadas, os espermatozóides.

Em geral o processo espermatogênico é dividido em três fases distintas: (a) fase proliferativa ou espermatogonial, na qual as espermatogônias proliferam e originam os espermatócitos e, ao mesmo tempo renovam, a população espermatogonial necessária para a manutenção do processo; (b) fase meiótica que se caracteriza por divisões reducionais dos espermatócitos, com a conseqüente formação de células haplóides, as espermatídes; (c) fase de diferenciação ou espermiogênese, onde as espermatídes sofrem complexa série de transformações citológicas originando os espermatozóides (CLERMONT, 1972; RUSSELL *et al.*, 1990).

A terminologia “cinética da espermatogênese” inclui o conjunto de processos citológicos e histológicos que ocorrem no interior dos túbulos seminíferos. Os eventos citológicos englobam as etapas de divisão, diferenciação e metamorfose das células germinativas em si, enquanto que os eventos histológicos são concernentes à evolução dos diferentes tipos celulares, em conjunto, no túbulo seminífero (CLERMONT, 1967).

Em qualquer estudo de cinética e quantificação da espermatogênese, é fundamental o reconhecimento morfológico dos diferentes tipos celulares que compõem o epitélio seminífero, incluindo-se tanto células germinativas (espermatogênicas) como células de sustentação (de Sertoli). Tal reconhecimento é feito, principalmente, em microscopia de luz, pelo estudo da morfologia nuclear das referidas células (CASTRO *et al.*, 1997).

A quantificação e a mensuração de núcleos de células espermatogênicas (espermatogônias, espermatócitos e espermátides) e núcleos de células de Sertoli, que se dá através da obtenção e análise de cortes histológicos, é uma importante ferramenta para elucidar questionamentos sobre o potencial reprodutivo de determinada espécie.

Através destas análises é possível inferir o número de espermatozóides esperados e correlacionar com o número de espermatozóides observados na análise seminal, bem como, com características comportamentais reprodutivas e fenotípicas de determinada espécie.

A descrição da morfologia do espermatozóide, obtida através da coleta e análise seminal, é de execução relativamente simples, e dela importantes conclusões podem ser obtidas, tais como, morfologia nuclear e organização estrutural do referido gameta de uma determinada espécie em estudo.

Essas observações se tornam possíveis com a utilização de técnicas de análise histológica e morfológica de testículos e espermatozoides, uma vez que através destas análises é possível uma investigação mais acurada que propicia uma descrição geral da organização estrutural, bem como, da população de células germinativas que compõem os testículos.

Quanto à composição e organização estrutural dos testículos, nos animais em geral, a análise histológica de um corte transversal de um túbulo seminífero, mostra que as células espermatogênicas estão organizadas de modo a formar camadas que vão desde a membrana basal até o lúmen tubular (CASTRO *et al*, 1997; FRANÇA, 1991). A descrição e caracterização dessas camadas é um fator importante para o estabelecimento do ciclo do epitélio seminífero (CES) que se evidencia nos túbulos seminíferos.

O ciclo do epitélio seminífero (CES) é visto como uma série de eventos (sucessão ordenada de associações celulares ou estádios) que ocorrem no tempo, em uma dada área do epitélio seminífero, entre dois aparecimentos sucessivos da mesma associação celular, ou seja, é um fenômeno de caráter temporal e ocorre em qualquer ponto do túbulo seminífero (CLERMONT, 1972; BERNDTSON, 1977; RUSSELL *et al.*, 1990).

Considera-se uma associação celular ou estádio do ciclo do epitélio seminífero (CES) como sendo um conjunto definido de gerações de células germinativas, encontrado em determinado momento, em um túbulo

seminífero seccionado transversalmente. Uma vez que as associações celulares desenvolvem-se de forma sincrônica, em estreita relação umas com as outras, disto decorre que, ao longo do tempo, em uma secção transversal de túbulo seminífero, ocorre mudança constante e progressiva de associações celulares, com uma regularidade cíclica. Dessa forma, à medida que o tempo passa, as diferentes associações celulares vão se sucedendo uma à outra na secção transversal do túbulo seminífero (CASTRO *et al*, 1997).

Nos peixes, as células espermatogênicas são confinadas no interior de cistos que se encontram dentro dos túbulos seminíferos. Cada cisto é composto pelo conjunto de células na mesma fase de diferenciação. Em um corte transversal de túbulo seminífero é possível caracterizar os cistos de células germinativas que compõem ou que preenchem esse túbulo.

1.2 Oogênese

Quanto à gametogênese em fêmeas, essa é denominada de oogênese e equivale ao processo que resulta na formação de gametas femininos, nos ovários. Na maioria dos animais, tal processo é dividido em três fases: multiplicação, crescimento e divisão. Na fase de multiplicação células germinativas chamadas de oogônias multiplicam-se através de várias divisões mitóticas consecutivas. No início da primeira divisão meiótica (meiose I), as oogônias se diferenciam em oócitos primários, os quais iniciam a segunda fase da oogênese, ou seja, a fase de crescimento.

Nos peixes, quando os oócitos primários iniciam a meiose I eles são envolvidos pela camada de células foliculares. Nesse momento, a meiose é interrompida e os oócitos iniciam um período de crescimento primário, quando passam por aumento de volume, devido ao acúmulo de substâncias de reserva no citoplasma. Ao final desse período, os oócitos de teleósteos já atingiram diâmetro entre 100 a 200 μm , sendo então chamados de oócitos previtelogênicos (VAL & HONCZARYK, 1995).

Em resposta a um estímulo ambiental, que pode ser fotoperíodo, pluviosidade e temperatura, haverá aumentos periódicos de gonadotropinas no sangue, induzindo os oócitos previtelogênicos a um desenvolvimento mais acentuado. Esta fase é caracterizada pelo surgimento de vesículas vitelínicas no citoplasma do oócito e é denominada de vitelogênese. Tal processo inclui a síntese de vitelogenina, no fígado, que é transportada para o oócito através dos vasos sangüíneos (VAL & HONCZARYK, 1995).

Em algumas espécies, a vitelogênese pode ser induzida e acelerada pela manipulação de fatores ambientais. Em espécies como a truta, a vitelogênese é acelerada pela manipulação do fotoperíodo, enquanto que com a carpa, a temperatura e o fotoperíodo aceleram a vitelogênese (VAL & HONCZARYK, 1995).

A maturação final dos oócitos, em muitas espécies de peixes tropicais de água doce, é muito rápida e geralmente tem duração menor do que

24 horas, envolvendo o reinício da meiose, migração da vesícula germinal (núcleo) para a borda do oócito e finalmente a quebra da vesícula germinal, um evento muito útil no julgamento da maturidade do oócito. A meiose cessa novamente e o oócito, agora maduro, está pronto para ser expulso (ocitação) e ser fertilizado (VAL & HONCZARYK, 1995).

Uma vez ovulados, os oócitos de diferentes espécies permanecem férteis no ovário, ou cavidade ovárica, por períodos que variam de menos de uma hora até diversos dias. Após este tempo, os oócitos se tornam “sobrematuros” e iniciam então a sua desintegração (VAL & HONCZARYK, 1995).

Ainda em relação à avaliação do desenvolvimento gonadal em fêmeas, o tipo de desova de um peixe é determinado pela interação entre a dinâmica do desenvolvimento oocitário, freqüência de desovas dentro de um período reprodutivo e número de períodos reprodutivos durante sua vida. Significa dizer, que o tipo de desova é o modo como as fêmeas liberam seus oócitos maduros dentro de um período reprodutivo, ou seja, depende basicamente, de como ocorre a seqüência de eliminação daqueles lotes de oócitos presentes no ovário (VAZZOLER, 1996).

Quanto ao referido desenvolvimento oocitário, MARZA (1938, apud WALLACE & SELLMAN, 1981) estabelecem-se quatro mecanismos de

desenvolvimento: sincrônico em um grupo; sincrônico em dois grupos, sincrônico em mais de dois grupos e assincrônico.

Sincrônico em um grupo é o mecanismo que consiste na maturação e eliminação concomitante, ou seja, de uma só vez, de toda a população oocitária presente nos ovários durante o período de desova. Equivale a dizer que a espécie realiza somente uma desova durante sua vida, visto que, nos ovários, não restam oócitos do estoque de reserva para desovas subseqüentes. Esse mecanismo caracteriza desova única.

No mecanismo sincrônico em dois grupos, a cada período reprodutivo notam-se dois lotes de oócitos nos ovários - um equivalente aos oócitos do estoque de reserva e outro lote correspondente aos oócitos que sofrerão os processos de maturação e eliminação sincrônicas em cada período reprodutivo. Este mecanismo é característico de espécies que apresentam desovas periódicas durante sua vida, sendo que, a cada período, somente um lote de oócitos é eliminado. Segundo VAZZOLER (1996), este mecanismo é dito como uma desova total.

O mecanismo sincrônico em mais de dois grupos se caracteriza pela presença de um lote de oócitos do estoque de reserva, e ao lado desse notam-se lotes de oócitos em distintas fases de desenvolvimento. Porém, os oócitos que compõem cada lote sofrem maturação sincrônica e são eliminados no período reprodutivo. VAZZOLER (1996) acrescenta que, neste mecanismo,

à medida que os lotes mais desenvolvidos atingem a maturação completa, são eliminados; assim sendo, a cada período de desova, verifica-se a eliminação sucessiva de lotes de oócitos maduros. Este mecanismo ocorre em espécies que desovam periodicamente durante sua vida, sendo que em cada período um número n , igual ou maior que 2, de lotes de oócitos maduros são eliminados, fato que caracteriza uma desova múltipla ou parcelada.

No mecanismo assincrônico, nos ovários, não são evidenciados lotes de oócitos, mas a presença de oócitos em todas as fases de desenvolvimento, logo estas células são eliminadas à medida que vão atingindo sua maturação completa. VAZZOLER (1996) acrescenta que, neste mecanismo, não se evidenciam períodos reprodutivos definidos, visto que a liberação dos oócitos maduros é contínua, durante a vida dos indivíduos, fato que caracteriza desova intermitente.

1.3 Características biológicas da *Plagioscion squamosissimus*

A pescada branca, *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (PISCES, TELEOSTEI, SCIAENIDAE), se encontra distribuída nas principais bacias hidrográficas da América do Sul: Bacia Amazônica, Bacia do Rio Parnaíba, e Bacia do rio Paraná, sendo uma espécie de grande importância comercial (SOARES, 1978; SOARES & CASATTI, 2000; SANTOS *et al*, 2006).

A espécie ocorre em quase todos os rios e lagos da Amazônia, tanto em águas brancas como em águas negras (SAINT-PAUL *et al.*, 2000), sendo comum também no estuário do rio Caeté, Bragança-PA (CAMARGO & ISAAC, 2001a), baía do Marajó (BARTHEM, 1985) e no litoral do Amapá e reentrâncias Maranhenses-paraenses (CAMARGO & ISAAC, 2001b).



Figura 1- *Plagioscion squamosissimus*

Quanto ao aspecto econômico da espécie, na ilha de Mosqueiro, um dos centros de abastecimento de pescado para os mercados de Belém, a pescada branca juntamente com a dourada *Brachyplatystoma rousseauxii*,

pescada amarela *Cynoscion acoupa* e a piramutaba *Brachyplatystoma vaillantii* compõem os principais recursos pescados na ilha (SANYO TECNO MARINE, 1998). Segundo as estatísticas de desembarque, entre 1993 e 1997, na baía do Marajó, o total desembarcado de pescada branca equivaleu a 40% do total capturado (em peso), tendo sido suplantado pela pescada amarela e sarda *Pellana sp.* com 53% e 49% (percentual em peso), respectivamente (BARTHEM, 2004).

É um teleósteo bentopelágico de água doce, pode alcançar 34,0cm de comprimento e peso máximo de 4,5Kg. Os juvenis se alimentam de formas imaturas de crustáceos, de insetos aquáticos, zooplâncton e de larvas de camarões. Ao atingir a fase adulta, apresenta alimentação variada, incluindo em sua dieta camarões e peixes. São observadas mudanças ontogenéticas em sua dieta, especialização alimentar e canibalismo (LASSO-ALCALÁ *et al.*, 1998).

Estes organismos possuem um par de pequenas pedras no crânio, os otólitos. Essas estruturas apresentam características distintas entre as espécies e gêneros, sendo uma importante forma de identificação de espécies diferentes.

Em virtude das referidas peculiaridades da espécie, foram realizados estudos sobre sua alimentação, tamanho e idade de primeira maturação, aspectos biológicos e ecológicos de fêmeas, seus parasitas, estrutura populacional (SOARES, 1978; LASSO-ALCALÁ *et al.*, 1998;

RODRIGUES *et al.*, 1988; CRUZ *et al.*, 1990; NASCIMENTO, 1992; CASTRO, 1994, 1999; DA MATA & LAZZARO, 1997; VALENTIM, 1998; RUFINO & ISAAC, 2000; CARNELÓS & BENEDITO-CECILIO, 2002; LOUBENS, 2003).

Esses estudos revelam a importância científica e econômica da espécie. Contudo, ainda são incipientes as informações sobre a atividade gonadal de machos e fêmeas da espécie, tais como, escala de maturidade gonadal, quantificação e mensuração de células germinativas de machos e fêmeas; estabelecimento do ciclo do epitélio seminífero nos machos. O presente trabalho buscou elucidar esses questionamentos e somar informações sobre a biologia reprodutiva da espécie.

OBJETIVOS

De acordo com as informações anteriores sobre *P. squamosissimus*, e levando-se em consideração a grande importância de se conhecer a biologia reprodutiva da ictiofauna amazônica e especialmente da pescada branca, este trabalho de pesquisa teve como objetivos:

1 Objetivos Gerais:

1.1 Descrever as características reprodutivas da pescada branca, no rio Pará;

2 Objetivos Específicos:

2.1 Caracterizar macro e microscopicamente a escala de maturidade gonadal de machos e fêmeas da espécie;

2.2 Quantificar a população de células germinativas femininas;

2.3 Quantificar a população de células espermatozóides;

2.4 Estabelecer os estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES) na espécie;

2.5 Estabelecer os valores da ΔRGS em machos e fêmeas da espécie;

2.6 Correlacionar os valores ΔRGS de machos com os dados macro e microscópicos da escala de maturidade e dados da quantificação da espermatogênese, afim de inferir o período reprodutivo de machos da espécie;

2.7 Correlacionar os valores ΔRGS de fêmeas com os dados macro e microscópicos da escala de maturidade e dados quantitativos e qualitativos de células gaméticas, afim de se inferir o período reprodutivo das fêmeas.

2.8 Contribuir com informações sobre a atividade pesqueira, em especial da pescada branca, no rio Pará.

MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

As coletas foram realizadas rio Pará, na área que compreende a região sul/sudeste da Ilha do Capim que está localizada no município de Abaetetuba, no Estado do Pará, na região compreendida como “região das ilhas de Abaetetuba”, que corresponde ao conjunto de ilhas situado na área de confluência dos rios Tocantins e rio Pará, no estuário do rio Amazonas (S 01° 34. 971'; W 048° 52.932').

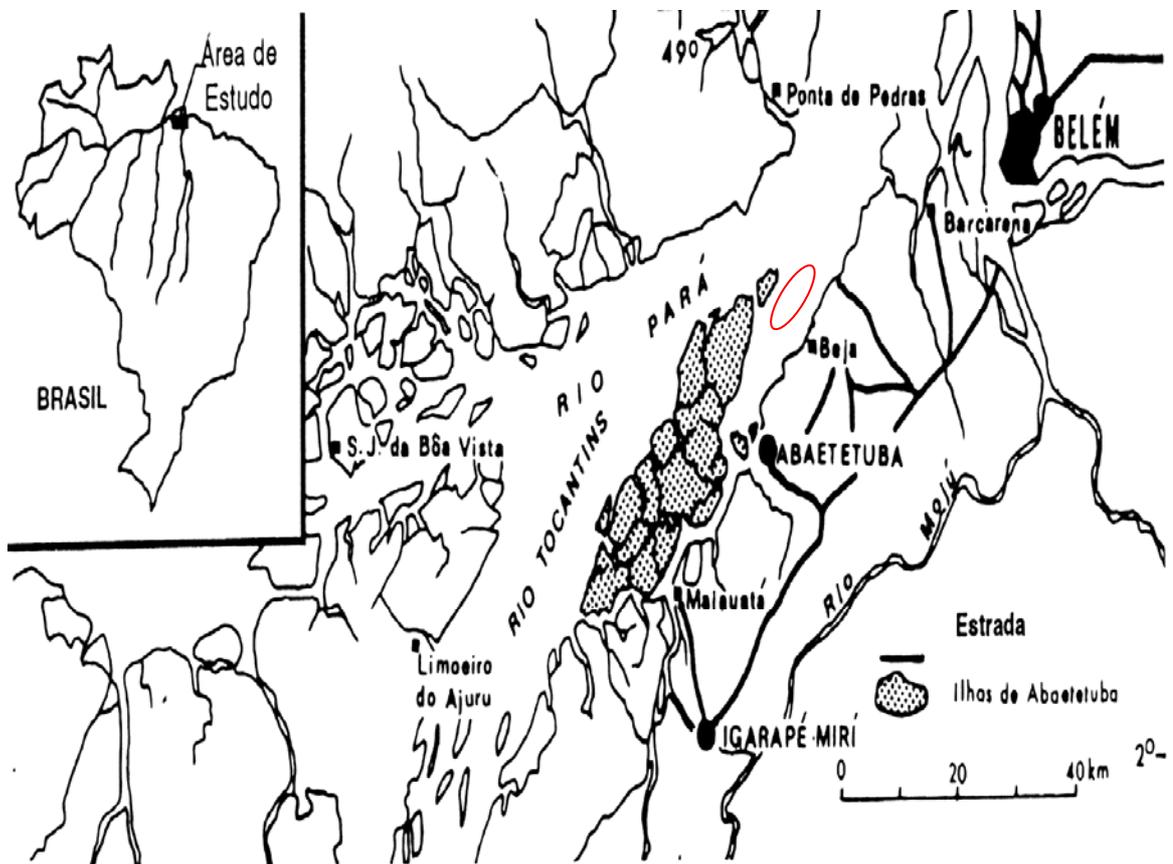


Figura 2: Demonstração da área de estudo e de coleta de material biológico (elipse)

A população da Ilha do Capim atinge cerca de 450 habitantes e as principais atividades econômicas desenvolvidas por essa população são a pesca e o cultivo de açaí (LEITÃO, 1997).

Por estar localizada no extremo do conjunto de ilhas, a Ilha do Capim apresenta sua região sul/sudeste voltada para os municípios de Abaetetuba, Vila do Conde, Barcarena e Beja (Figura 2). O lado norte/nordeste da ilha está voltado para a baía do Marajó. Enquanto as outras ilhas, se separam por pequenos rios, a ilha do Capim se localiza entre a baía do Capim e a de Marajó. Sua localização faz com que a mesma se encontre na área de influência de grandes projetos, como o Complexo Metalúrgico Albrás-Alunorte, instalado no município de Barcarena, no estado do Pará (LEITÃO, 1997).

3.1.1 Fatores abióticos do rio Pará, na região sul/sudeste da ilha do Capim, no período de fevereiro de 2003 a fevereiro de 2004

Os dados abióticos, obtidos no referido período de coleta, são concernentes às características ambientais, tais como, a temperatura ambiente e a pluviosidade.

3.1.2 Atividade pesqueira no rio Pará, na região sul/sudeste da ilha do Capim

No presente trabalho, os dados obtidos na pesquisa com os pescadores e moradores locais (área de coleta) forneceram importantes informações referentes à atividade pesqueira na região, em especial a captura de *P. squamosissimus*.

Para análise e tabulação dos dados relativos à atividade pesqueira, na área de estudo, fez-se uma estimativa desta atividade nos últimos quinze anos na referida área. Para isso, trabalhou-se com um grupo dos vinte pescadores mais antigos da região. Desse grupo foram obtidos os valores médios de tempo (em horas por dia) gasto na pescaria há quinze anos e o tempo médio atual (em horas por dia), bem como, as médias de quantidade (kg) e tamanho (cm) do pescado capturado há quinze anos e as médias atuais.

3.2 Coleta dos espécimens

Coletas mensais de *P. squamosissimus* foram realizadas com redes de emalhar (35 ou 40 mm entre nós adjacentes). Foram coletados 234 indivíduos, no período de fevereiro de 2004 a fevereiro de 2005. Desse total, 115 animais eram fêmeas e 119 eram espécimes machos. Foi coletado o sêmen de machos que se encontravam com gônadas maduras. Para a análise dos aspectos macroscópicos, histológicos e histomorfométricos das gônadas, foram utilizados testículos e ovários de todos os espécimes sexualmente maduros capturados.

3.2.1 Verificação do comprimento e peso dos espécimes

Todos os espécimes capturados foram medidos (comprimento total em cm) e pesados (peso total em g). Esses dados biométricos mensais foram correlacionados com aqueles das análises macroscópica, histológica e histomorfométrica dos testículos e ovários.

3.3 Escala de maturidade gonadal

Depois da obtenção dos dados biométricos de peso e comprimento, os animais foram sacrificados pelo método de comoção cerebral. Posteriormente, fez-se uma incisão no celoma de cada animal, a partir da abertura urogenital em direção à cabeça do animal. Esse procedimento permitiu que a gônada fosse coletada integralmente, sendo medida (cm) e pesada (g).

Para o estabelecimento da escala de maturidade gonadal (definida em estádios), fez-se a caracterização dos estádios de maturação segundo a metodologia descrita por VAZOLLER (1996). Assim sendo, os referidos estádios foram definidos segundo as características macroscópicas de volume, coloração, grau de transparência e irrigação sangüínea das gônadas, aliadas às características microscópicas. Dessa forma, foram definidos quatro estádios de maturação gonadal: Gônadas em repouso; Gônadas em maturação; Gônadas maduras; Gônadas esvaziadas:

3.3.1 Gônadas em repouso

Neste estágio os ovários apresentaram tamanho reduzido, ocupando em torno de 1/3 do celoma, sendo translúcidos, com fraca vascularização e não foram observados oócitos a olho nu.

Os testículos em repouso apresentaram-se de tamanho reduzido, filiformes e localizados juntos à coluna vertebral.

3.3.2 Gônadas em maturação

Os ovários ocupavam de 1/3 a 2/3 da cavidade corpórea, apresentavam-se vascularizados e com oócitos (pequenos), visíveis a olho nu.

Os testículos apresentaram-se bem desenvolvidos, esbranquiçados e quando submetidos a certa pressão rompiam-se, eliminando esperma leitoso e viscoso.

3.3.3 Gônadas maduras

Os ovários ocupavam cerca de 70% da cavidade corpórea, apresentavam-se túrgidos e preenchidos por grande quantidade de oócitos visíveis a olho nu.

Os testículos encontravam-se túrgidos, esbranquiçados, ocupando grande parte da cavidade abdominal e quando submetidos à fraca pressão rompiam-se, eliminando esperma menos viscoso do que o estágio anterior.

3.3.4 Gônadas esvaziadas ou semi-esvaziadas

Os ovários se encontravam relativamente flácidos, com membranas distendidas, tinham aspecto hemorrágico com poucos oócitos visíveis a olho nu e ocupavam cerca de 1/3 do celoma.

Os testículos esvaziados ou semi-esvaziados apresentavam aspecto hemorrágico, eram completamente flácidos e não se rompiam sob fraca pressão.

3.4 Coleta do sêmen dos espécimes sexualmente maduros

Depois dos procedimentos supracitados, realizou-se a coleta do sêmen dos espécimes com gônadas maduras (total de seis animais). Com o auxílio de uma agulha, cada gônada foi perfurada e levemente pressionada para a coleta do sêmen em tubos plásticos de polipropileno com capacidade de 50ml e devidamente identificados.

Amostras de 20 µl de sêmen foram retiradas de cada tubo e colocadas em 180 µl de solução de formol salino. Esse procedimento proporcionou a diluição do sêmen e conseqüentemente a análise da morfologia dos espermatozóides. Essas amostras foram conduzidas para o Laboratório de Reprodução Animal da UFPA, onde foram analisadas.

3.4.1 Morfologia do Espermatozóide

Para este parâmetro, com o auxílio de uma pipeta, retirou-se uma pequena quantidade de sêmen dos túbulos com sêmen diluído e sobre uma lâmina previamente limpa colocou-se uma pequena gota desse sêmen (5-7 µl) e uma gota de Eosina Y. Após 15 segundos, colocaram-se duas gotas de Nigrosina sobre a mesma lâmina, homogeneizou-se e transferiu-se uma gota desse material para outra lâmina e fez-se, em seguida, um fino esfregaço. Depois de seca, a lâmina foi analisada em microscópio de luz.

3.5 Processamento Histológico das Gônadas

3.5.1 Dissecção e fixação dos testículos e ovários para análise microscópica

Com o uso de um bisturi, as gônadas (testículos e ovários) foram seccionadas em fragmentos com aproximadamente 2 mm de espessura, com coleta e identificação de suas porções proximal, média e caudal. Parte desses fragmentos foi fixada em solução de formol a 10%. Outra parte foi fixada em solução de glutaraldeído a 2,5%.

Depois de 24 horas de fixação, os fragmentos foram transferidos para álcool a 70%, onde permaneceram por igual período. Posteriormente os mesmos foram processados pela técnica de rotina em parafina.

3.5.2 Corte, Coloração e Observação do Material em Microscopia de Luz:

Para a análise histológica das gônadas, foram obtidos cortes histológicos de aproximadamente 5 μ m de espessura, em micrótomo “American Optical Corporation 820 Spencer Microtome”. Esses cortes foram colocados em banho-maria, transferidos para lâminas histológicas e colocados em estufa a 37°C por um tempo mínimo de 12 horas. Posteriormente, os cortes foram corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE). O processamento teve continuidade com a diafanização dos cortes em xilol e montagem das lâminas em Permount. Depois desses procedimentos, as lâminas foram analisadas em microscópio “Olympus” modelo CHK2-F, com caracterização morfológica, mensuração e quantificação das células da linhagem gamética dos testículos e ovários, bem como, fez-se a caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero nos machos.

3.6 Análise da variação temporal da relação gonadossomática (Δ RGS) em machos e fêmeas

A Δ RGS foi utilizada por ser um importante indicador quantitativo do período reprodutivo de uma espécie ou de uma população (VAZZOLER, 1996). Para isso, fez-se uso dos dados inerentes à data de coleta dos espécimes (mês de coleta), sexo, peso total em gramas (W_t ; g) e peso gonadal em gramas (W_g ; g) de machos e fêmeas.

Inicialmente, calculou-se o peso do corpo de cada indivíduo macho ou fêmea

(W_c):

Onde:

$$W_c = W_t - W_g$$

Posteriormente, se calculou, para cada indivíduo, os valores da RGS1 e RGS2

Onde:

$$RGS_1 = W_g / W_t \times 100$$

$$RGS_2 = W_g / W_c \times 100$$

Logo, se pôde calcular a diferença entre os valores médios mensais de RGS₁ e

RGS₂ :

Onde:

$$\Delta RGS = RGS_2 - RGS_1$$

Os valores mais elevados ΔRGS correspondem ao período reprodutivo da espécie. Não obstante, esses valores foram correlacionados com os dados macro e microscópicos da escala de maturidade gonadal (estádios de maturação), com as médias de oócitos maduros (em vitelogênese completa), com os valores percentuais dos espermatozóides. Na referida correlação, foi utilizado o teste paramétrico de Pearson. A tabulação dos dados foi realizada no programa estatístico BioEstat 3.0 (AYRES *et al.*, 2003).

Quanto aos dados inerentes à escala de maturidade gonadal (estádios de repouso, em maturação, maduro e esvaziado ou semi-esvaziado), foram obtidos os valores médios de células germinativas que compunham cada um dos referidos estádios, tanto em machos como em fêmeas. A esses dados somaram-se as frequências dos estádios gonadais de machos e fêmeas ao longo dos doze meses de coleta de materiais.

3.7 Quantificação e mensuração das células da linhagem espermatogênica:

A análise da quantificação e mensuração das células espermatogênicas (estudo histomorfométrico) foi realizada com a utilização de um tambor morfométrico. Para isso, fez-se a contagem e mensuração dos núcleos das células presentes em dez túbulos seminíferos. Porém, nesta contagem, involuntariamente podem ser mensurados os fragmentos nucleares presentes dentro dos cistos. Logo, para corrigir esse problema, os dados obtidos (“números brutos”) foram convertidos em “números reais” de acordo com o fator de correção de ABERCROMBRIE (1946).

Onde: Contagem real = contagem bruta x [espessura do corte / (espessura do corte + diâmetro nuclear)]

3.8 Caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES) na pescada branca, com base em cada associação celular presente nos cistos no interior dos túbulos seminíferos:

Para a caracterização dos oitos estádios do ciclo do epitélio seminífero da pescada branca foi utilizado o método da morfologia dos túbulos seminíferos (AMANN, 1970; ORTAVANT *et al.*, 1977; CARDOSO, 1981; FRANÇA, 1991). Para isso, se levou em consideração que nos peixes, os túbulos seminíferos são caracterizados por um conjunto de cistos de células germinativas que podem estar na mesma fase de desenvolvimento, por

exemplo, somente cistos de células mitóticas (espermatogônias). Porém, um túbulo seminífero pode ser composto de cistos de células mitóticas (espermatogônias); cistos de células meióticas (espermatócitos); cistos de células espermiogênicas (espermatídes), além da presença ou não de espermatozóides no lúmen tubular. Assim sendo, o método da morfologia tubular, utilizado para a caracterização dos estádios do CES, na pescada branca, teve como referenciais a fase de diferenciação celular em cada cisto, o diâmetro nuclear e o padrão de coloração destas células, além da presença ou ausência de espermatozóides no lúmen tubular.

RESULTADOS

4.1 FATORES ABIÓTICOS DO RIO PARÁ, NA ÁREA QUE CORRESPONDE À REGIÃO SUL/SUDESTE DA ILHA DO CAPIM

Os dados obtidos da verificação anual da temperatura ambiente, no local de coleta, indicaram que a temperatura média não variou significativamente ao longo dos doze meses de coleta. As temperaturas mais elevadas foram registradas nos meses de junho, julho, agosto e setembro (temperatura média de 32°C). Este fato coincidiu com o período menos chuvoso do ano na região. Já os menores valores térmicos foram registrados nos meses de dezembro, janeiro, fevereiro e março (temperatura média de 27°C), que veio a coincidir com a fase invernal na região, com grande incidência de chuvas. A temperatura anual média, registrada de fevereiro de 2004 a fevereiro de 2005 foi de $31,5 \pm 2,27^\circ\text{C}$.

4.2 OBSERVAÇÕES DA ATIVIDADE PESQUEIRA NA REGIÃO SUL/SUDESTE DA ILHA DO CAPIM, NO RIO PARÁ

As informações obtidas, através deste trabalho, com os moradores da região Sul/Sudeste da Ilha do Capim, mostraram que estes moradores tinham a atividade pesqueira como uma de suas principais fontes de renda e subsistência. Tal fato pôde ser corroborado ao longo dos doze meses de coleta de material

biológico deste trabalho. Não obstante, o forte caráter de subsistência foi comprovado pelo fato do pescado fazer parte da dieta alimentar de todas as famílias residentes na região sul/sudeste da Ilha. Cabe ressaltar que outra importante fonte de obtenção de renda, da população local, também observada durante a realização deste trabalho, foi o cultivo de “açaizais”, com a comercialização do açaí, por exemplo, na cidade de Abaetetuba ou mesmo na capital Belém, PA, Brasil.

Observou-se que a atividade pesqueira era realizada com a utilização de linhas de pesca (linhas-de-mão); matapis (aparelho de pesca muito utilizado para captura de camarões); espinhéis (linha de nylon de 100 a 200 m de comprimento, composta de 100 a 200 anzóis com cerca de 35 cm de equidistância entre si). Notou-se que este aparelho de pesca é muito utilizado para a captura de bagres de pequeno, médio e grande-porte, dentre os quais se encontram a piraíba, a piramutaba e a dourada. Os espécimens de médio a grande-porte eram levados para a cidade de Abaetetuba, onde eram comercializados. Aqueles espécimens de pequeno-porte eram utilizados na alimentação das famílias dos pescadores.

Não obstante, se verificou que o tipo de aparelho de pesca mais utilizado pela maioria dos pescadores, da referida região, era a rede de emalhar (rede de espera). Esse aparelho era muito difundido para a pesca da *P. squamosissimus*, sendo que essa espécie era a mais capturada e consumida na alimentação das famílias dos pescadores.

No concernente à freqüência da atividade pesqueira, se notou que essa atividade ocorria de forma contínua e ininterrupta ao longo do ano. Contudo, havia diminuição do número de pescadores e tempo de pesca nos meses de junho a outubro, que correspondiam aos meses da safra ou colheita do açaí, quando os habitantes locais dispensavam mais tempo para essa atividade econômica.

Através do presente trabalho, também, se pôde notar que um outro fator que diminuía a atividade pesqueira na região, nos meses de setembro, outubro e novembro, eram as condições climáticas desfavoráveis, para tal atividade, durante boa parte do dia. Aqueles meses, devido aos ventos muito mais intensos e constantes, que nos outros meses, notou-se que as águas ficavam bastante agitadas e com ondas (“maresias”) que poderiam superar um metro e meio de altura. Tal fato, aliado a fatores como tamanho de embarcação e maior dificuldade de pesca obrigavam os pescadores a aguardarem, ao longo do dia, um momento favorável à pescaria.

4.2.1 Observação do tipo de aparelho utilizado na pesca de *P. squamosissimus*

Ao longo dos doze meses de estudo, se observou que o tipo de aparelho de pesca muito utilizado para a captura da pescada era a rede de emalhar com altura de 2,5 m e comprimento de 70 m, com malhagem de 35 ou 40 mm (entre nós adjacentes). Contudo, se observou que a quantidade de redes

utilizadas era inegavelmente discrepante entre os pescadores que utilizavam cascos, canoas ou montarias não motorizadas, quando comparada com aqueles que pescavam em embarcações motorizadas, isto é, enquanto os primeiros conseguem colocavam em suas embarcações em média 5 (cinco) redes (comprimento total 350 m), os últimos podiam pescar com um número médio de 8 (oito) redes que resulta no total de 560m de redes usadas para a pesca.

Observou-se que ao chegarem aos seus pontos de pesca, os pescadores lançavam suas redes na água, onde permaneciam por um intervalo de tempo de 40 a 80 minutos (média de 60 minutos). Depois desse período, as redes eram içadas e despescadas (peixes retirados das redes de emalhar). Após esses procedimentos, comumente, as redes voltavam a ser lançadas à água. A repetição do procedimento dependia de fatores tais como: quantidade do pescado capturado por cada despesca; tempo de pescaria; condições climáticas favoráveis; regime de maré; número de redes utilizadas, etc.

4.2.2 Tipo de embarcação utilizada para a pesca de *P. squamosissimus*

Dentre os pescadores que desenvolviam suas atividades pesqueiras na região sul/sudeste da Ilha do Capim, se verificou que cerca de 80% utilizavam embarcações pequenas e não motorizadas, tais como, montarias, canoas e

cascos. Em virtude dos mesmos terem que se deslocar por distâncias relativamente longas, à procura dos cardumes de pescadas, eles faziam uso de velas de lona ou de material plástico que propiciavam seus deslocamentos mais rapidamente.

Observou-se que esse tipo de atividade pesqueira, com forte caráter de subsistência, fazia com que o tempo destinado à pesca, acabava não se traduzindo em tempo real de pescaria.

Outra verificação foi o fato de que grande parte dos pescadores (70% dos que utilizavam as embarcações citadas) não utilizavam nenhum meio de conservação do pescado. Segundo relato dos próprios pescadores, isso se devia às suas condições financeiras. Tal fato os obrigava a depositar todo o pescado no fundo (porão) da embarcação.

4.2.3 Uso de embarcações motorizadas nas atividades pesqueiras no rio Pará (região sul/sudeste da ilha do Capim)

As informações obtidas, através deste estudo, indicaram que cerca de 20% dos pescadores que desenvolviam as suas atividades pesqueiras no rio Pará (região sul/sudeste da Ilha do Capim) utilizavam embarcações motorizadas. A grande maioria destes (85% a 90%) utilizava redes de emalhar (2,5 m de altura e 70 m de comprimento) com malhagem de 35 mm e 40 mm.

4.2.4 Análise do tempo (horas diárias) destinado à atividade pesqueira

Os dados obtidos da pesquisa realizada com um grupo de 20 (vinte) pescadores, dentre os mais antigos da região sul/sudeste da ilha do Capim (média de idade $39,6 \pm 8,4$ anos), concernentes ao tempo que os mesmos destinavam à atividade pesqueira, são indicativos de que há quinze anos, o tempo médio que esses pescadores destinavam para tal atividade era de $4,58 \pm 1,085$ horas diárias. Já o tempo médio atual destinado à pescaria, segundo os pescadores, é de $7,38 \pm 2,83$ horas diárias.

Conforme os relatos do mesmo grupo de pescadores, há quinze anos, a quantidade média de pescado, por pescador, ficava em torno de $25,6 \pm 9,6$ kg, cujo peso médio em gramas de cada animal era de $407,5 \pm 107,9$ g. Atualmente a quantidade média de pescado capturado fica em torno de $16,2 \pm 9,4$ kg, sendo que o peso médio em gramas por animal é de $262,0 \pm 64,77$ g.

4.3 Localização de ovários na cavidade abdominal da pescada

Os ovários de *P. squamosissimus* são órgãos pares localizados na porção dorsal da cavidade abdominal. Mantêm-se separados em toda a sua porção anterior (cefálica) e mediana. Na porção posterior (caudal) ocorre união

dos ductos que desembocam na abertura genital. Eles são envolvidos parcialmente pelo peritônio o qual os mantém aderidos às paredes da porção dorsal do celoma.

A análise histológica de cortes de ovários revelou que essas gônadas são revestidas externamente por um tecido epitelial. Esse epitélio repousa sobre uma espessa camada subjacente de tecido conjuntivo denso (a túnica albugínea) que adentra nas gônadas para formar lamelas ovíferas que são revestidas por células foliculares. No interior das lamelas, encontra-se toda a população de células germinativas (Figura 3).

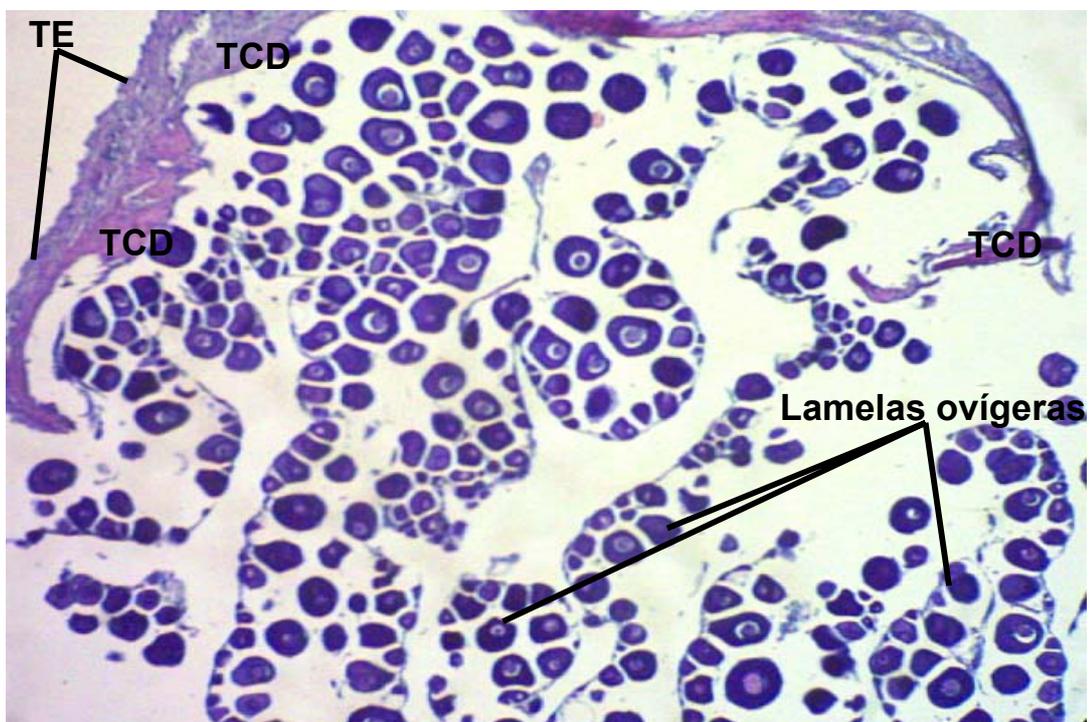


Figura 3- Fotomicrografia mostrando a organização estrutural do ovário, lamelas ovíferas; tecido epitelial (TE); tecido conjuntivo denso (TCD). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 10X.

4.4 Análises Macro e Microscópica da Escala de Maturação Gonadal de Fêmeas

As características macro e microscópicas observadas ao longo do ciclo reprodutivo da pescada demonstraram que os ovários da espécie passavam por 4 estádios de maturação: repouso, em maturação, maduros e esvaziados.

4.4.1 Ovários em Repouso

Macroscopicamente, ovários em repouso ocupavam cerca de 30% do celoma, eram pouco vascularizados e translúcidos. Os dados quantitativos indicaram que esse estágio apresentou maiores valores percentuais nos meses de março com 61% (n= 10), abril com 85,8% (n= 12), e setembro com 40% (n= 14) das fêmeas capturadas nos respectivos meses. Os cortes histológicos dos ovários demonstraram que as lamelas ovíferas eram compostas por ninhos de oogônias, oócitos I e do estoque de reserva (oócitos II) (Figura 4). A média destes últimos, em cada cem células analisadas, foi de $76,21 \pm 19,45$ em março, $86,11 \pm 27,4$ em abril, e $87,34 \pm 21,77$ em setembro.

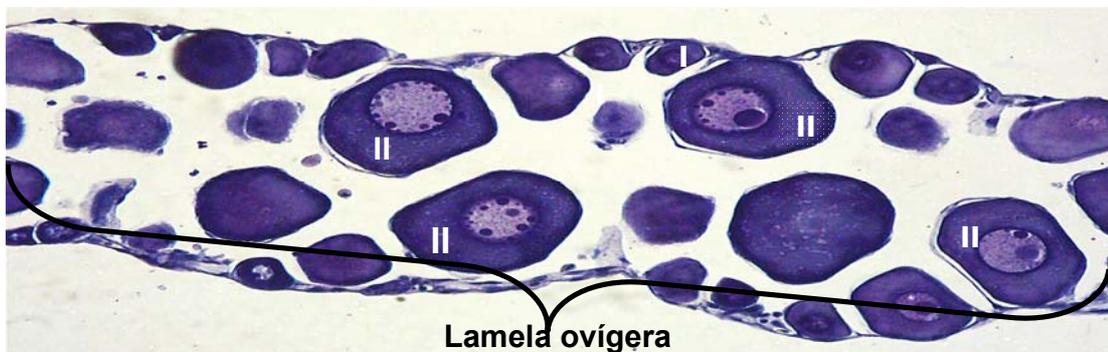


Figura 4- Fotomicrografia de um ovário no estágio de repouso onde é destacada a lamela ovígera contendo os oócitos I e II. Coloração HE. Aumento da objetiva 20X.

A análise histológica das oogônias indicou que essas células possuem citoplasma levemente basófilo e bem desenvolvido. O núcleo tinha localização central com um único nucléolo excêntrico. Comumente, essas células agrupavam-se em ninhos localizados próximos a vasos sanguíneos. A partir dessas células se originava a população de oócitos dos ovários (Figura 5).

Os oócitos do estoque de reserva (oócitos II) possuíam citoplasma basófilo e desenvolvido. O núcleo tinha localização central, sendo bastante volumoso e com número variável de nucléolos excêntricos. Essas células mostravam-se revestidas por uma camada de células foliculares (Figura 6).

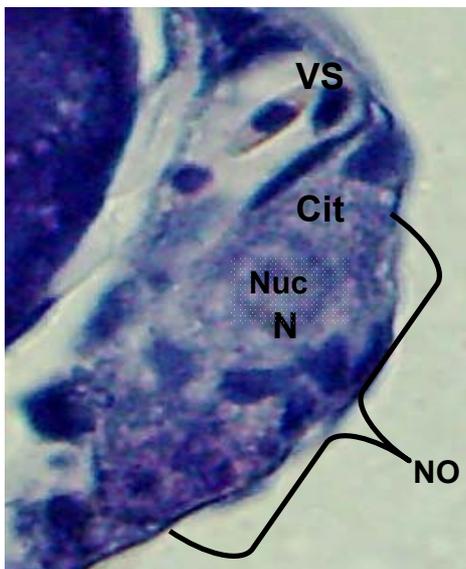


Figura 5-Fotomicrografia mostrando em detalhe um ninho de oogônias (NO); citoplasma de uma oogônia (Cit); núcleo (N); nucléolo (Nuc); vaso sanguíneo (VS). Coloração HE. Aumento da objetiva 100X.

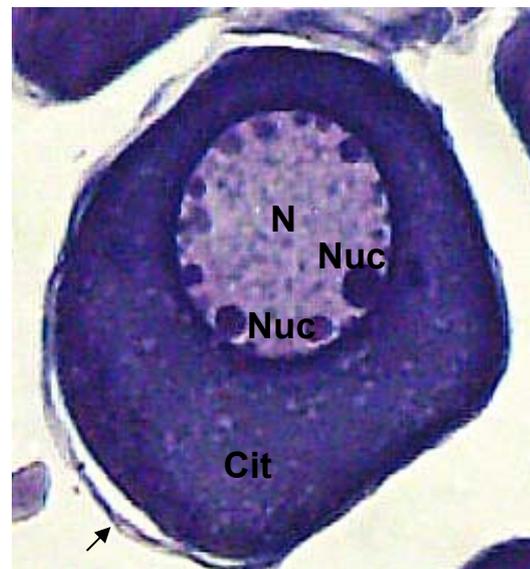


Figura 6- Fotomicrografia de um oócito prévitelogênico ou oócito II, citoplasma (Cit); núcleo (N); nucléolos (Nuc), células foliculares (seta). Coloração HE. Aumento da objetiva 40X.

4.4.2 Ovários em Maturação

Macroscopicamente, nas pescadas em maturação gonadal, os ovários ocupavam cerca de 50% do celoma, tendo coloração amarelada, com grande quantidade de oócitos visíveis a olho nu.

A análise quantitativa das fêmeas, nos doze meses de coleta, demonstrou que os maiores valores percentuais de ovários em maturação foram verificados nos meses de maio com 33,30% (n= 10), junho com 44,4% (n= 10), outubro com 50% (n= 14) e novembro com 75% (n= 10) de fêmeas com ovários em maturação. Este último foi dividido em dois sub-estádios: maturação inicial e maturação final.

4.4.2.1 Ovários em maturação inicial:

No início da maturação gonadal ou maturação inicial (maio e outubro), de cada 100 células gaméticas quantificadas, os oócitos do estoque de reserva (oócitos II) ainda foram as células mais frequentes, com médias de $60 \pm 24,71$ no mês de maio e de $57,24 \pm 19,57$ no mês de outubro. A segunda maior média ficou com os oócitos em vitelogênese lipídica (oócitos III) com $31,8 \pm 11,01$ em maio e $38,11 \pm 14,55$ em outubro.

A análise histológica dos ovários em maturação inicial demonstrou que os oócitos em vitelogênese lipídica (oócitos III) apresentavam núcleo e citoplasma mais volumosos que os oócitos II. No citoplasma, observou-se o processo de vacuolização com a conseqüente formação de vesículas lipídicas ou gotas de lipídio que brotavam, aparentemente, da região perinuclear e se dispersavam por todo o citoplasma. O núcleo tinha contorno ligeiramente irregular com nucléolos pequenos e dispostos periféricamente no seu interior (Figura 7).

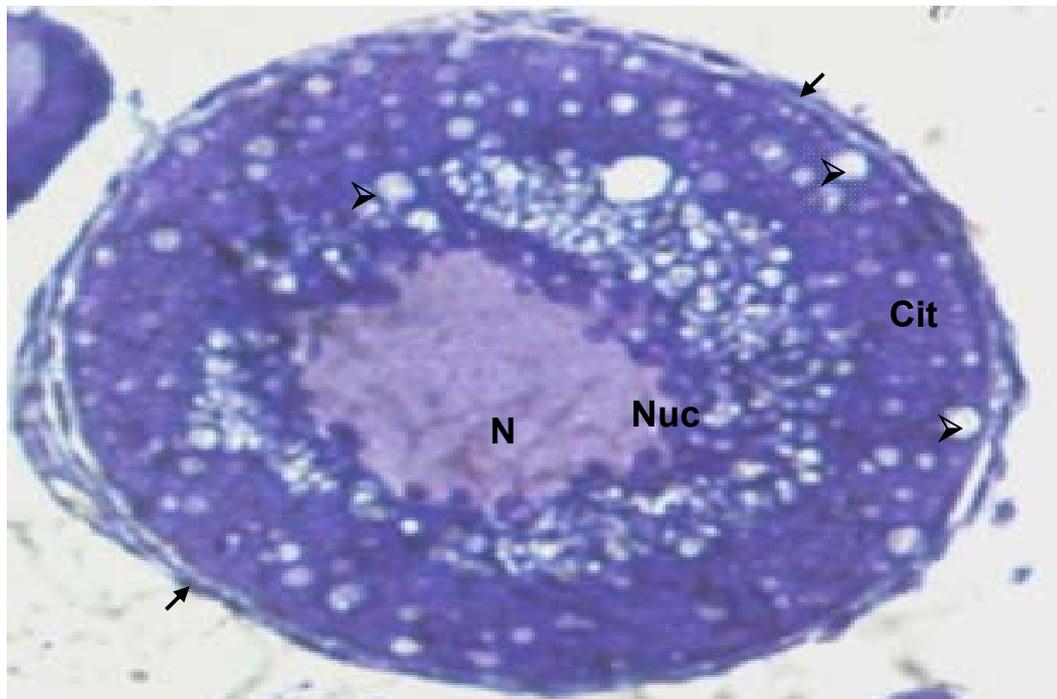


Figura 7- Fotomicrografia de um oócito em vitelogênese lipídica (oócito III); células foliculares (setas); vesículas lipídicas (➤); núcleo (N); nucléolo (Nuc). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

4.4.2.2 Ovários em maturação final

Nas gônadas em maturação final (junho e novembro) notou-se a diminuição de oócitos II e III. Concomitantemente a essa diminuição surgiam os oócitos em vitelogênese lipídica e protéica (oócitos IV) e oócitos com vitelogênese completa ou oócitos maduros (oócitos V). Em cada cem células quantificadas, os oócitos IV atingiram o valor médio de $12,0 \pm 4,97$ células em junho e $8,88 \pm 2,26$ células em novembro. Os oócitos V alcançaram uma média de $25,0 \pm 7,21$ células (em cada cem células quantificadas) em junho e $32,33 \pm 11,71$ células em novembro.

Os oócitos em vitelogênese lipídica e protéica (oócitos IV) eram células com frequência relativamente baixa nos ovários em maturação final. Essa baixa frequência pode estar associada ao fato das mesmas terem curta duração. O citoplasma, desses oócitos, mostrou-se muito volumoso e com grande quantidade de vesículas lipídicas. A característica notável dessas células foi o surgimento de grânulos de proteína a partir da superfície interna da membrana plasmática da célula. Essa disposição, aliada ao contínuo aumento desses grânulos tende a forçar o direcionamento dessas vesículas para uma região relativamente periférica ao núcleo, na qual tais vesículas se localizam (Figura 8).

Nos ovários em maturação final, surgiam as maiores células gaméticas, ou seja, os oócitos com vitelogênese completa ou maduros (oócitos V).

Essas células foram caracterizadas pela plenitude do processo vitelogênico, no qual, as vesículas lipídicas e os grânulos de protéicos atingiram o volume máximo (Figura 8).

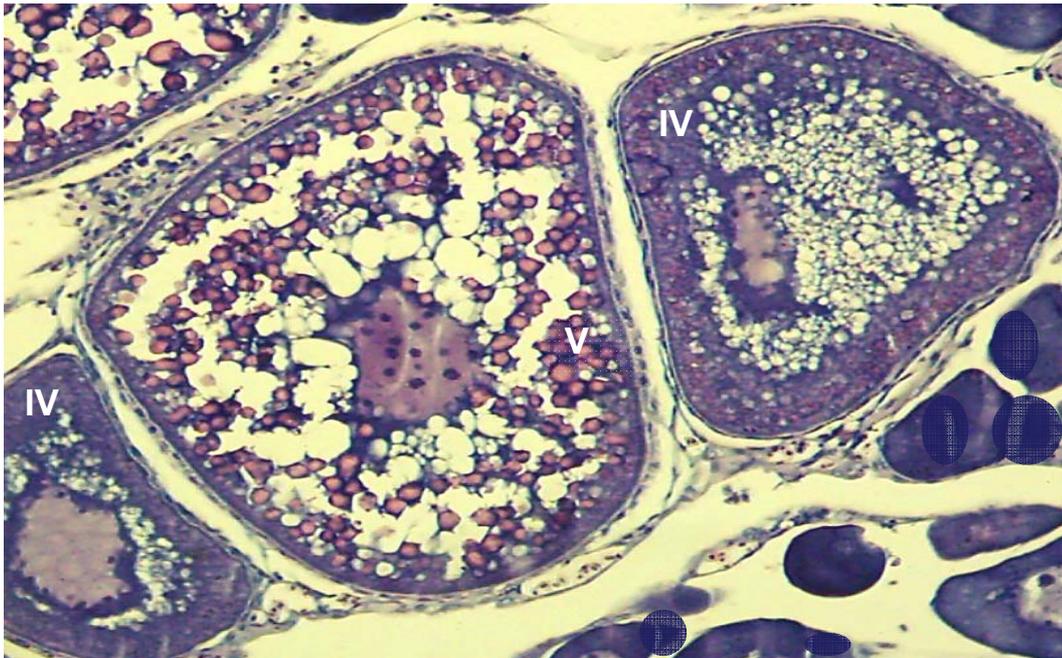


Figura 8- Fotomicrografia de um ovário em maturação final, no qual são observados oócitos em vitelogênese lipídica e protéica (oócitos IV), oócitos com vitelogênese completa ou oócitos maduros (oócitos V). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 20X.

4.4.3 Ovários Maduros

Macroscopicamente, os ovários maduros apresentavam coloração amarelada, ocupando cerca de 65% a 70% do celoma e estavam repletos de oócitos visíveis a olho nu. Nos cortes histológicos, observaram-se oogônias, oócitos de reserva (oócitos I e II), oócitos com vitelogênese lipídica (oócitos III) e

oócitos com vitelogênese completa ou oócitos maduros (oócitos V) que foram as células predominantes (Figura 9).

As maiores percentagens de animais com gônadas maduras foram observadas nos meses de julho com 43% (n= 12), dezembro com 20% (n= 10) e janeiro com 55% (n= 12). Nesses meses, de cada cem células quantificadas, 69% correspondiam aos oócitos maduros (oócitos V) ($71,3 \pm 27,39$). O teste paramétrico de Pearson indicou haver forte correlação entre os índices de ovários maduros com a média de oócitos maduros ($r= 0,8984$; $p= 0,0001$), nos referidos meses.

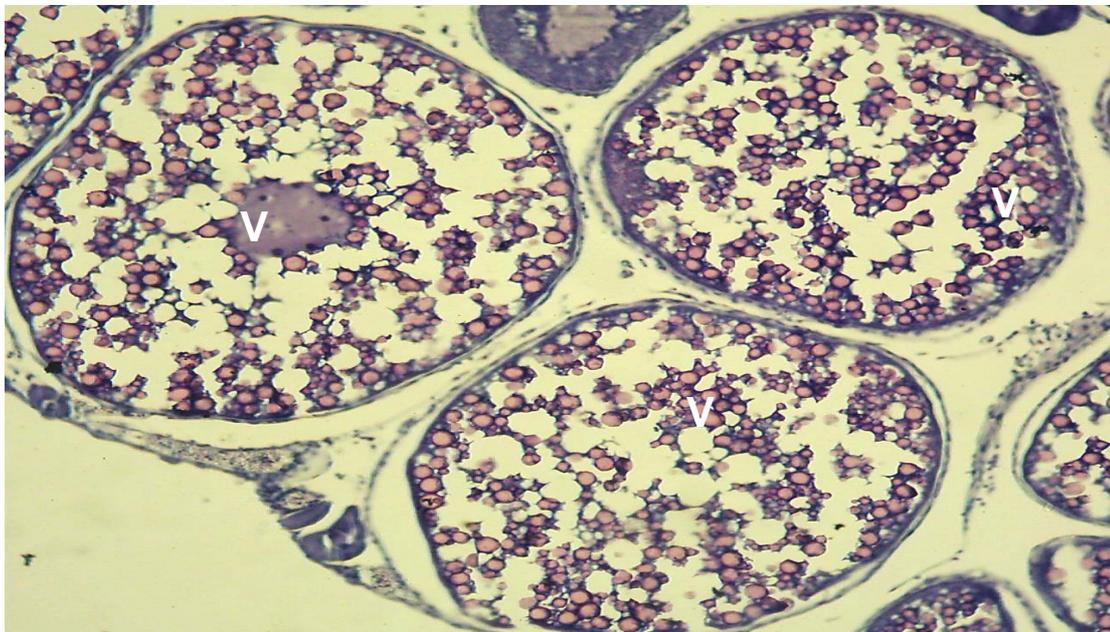


Figura 9- Fotomicrografia de um ovário maduro onde se observa a predominância de oócitos com vitelogênese completa, ou seja, oócitos maduros (oócitos V). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 20X.

Os dados referentes à variação temporal da relação gonadosomática (Δ RGS) foram indicativos de que a espécie apresenta dois picos de desova ao longo de um ciclo reprodutivo. Sendo que, uma desova principal ou mais intensa foi observada entre os meses de dezembro e janeiro. Aparentemente um segundo pico de desova de menor intensidade parece ocorrer no mês de julho (Figura 10).

A aplicação do teste paramétrico de Pearson entre Δ RGS com ovários maduros dos meses de julho (n= 12), dezembro (n= 10) e janeiro (n= 12), demonstrou haver correlação positiva entre essas variáveis ($r= 0,7688$; $p= 0,0035$). O teste não-paramétrico confirmou essa correlação ($r_s= 0,8176$; $p= 0,0012$). A comparação entre RGS com as médias de oócitos maduros (julho, dezembro e janeiro) foi também indicativa de forte correlação positiva entre essas variáveis, com valores paramétricos ($r= 0,9462$; $p= 0,0000$).

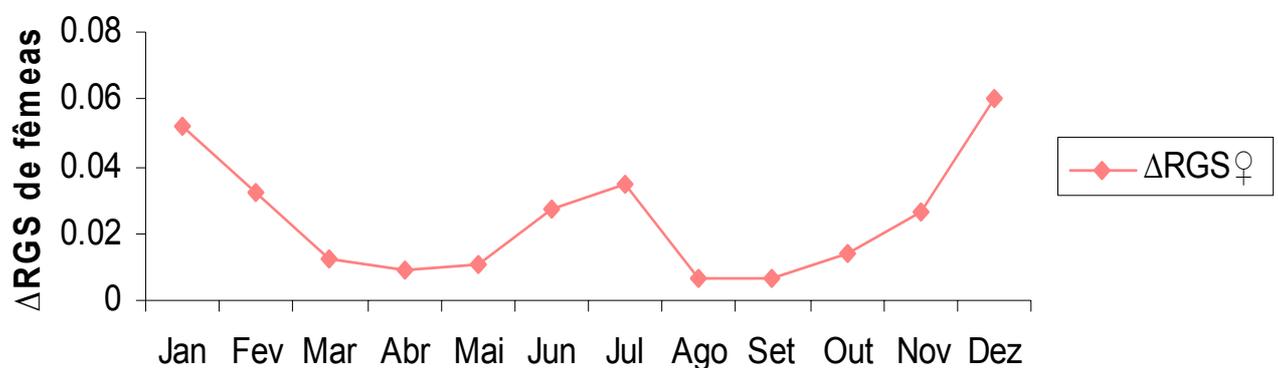


Figura 10- Valores mensais da Δ RGS de fêmeas (n= 115). Os meses de maiores valores de Δ RGS correspondem aos meses de desova da espécie no rio Pará.

4.4.4 Ovários Esvaziados

Macroscopicamente os ovários apresentaram coloração ligeiramente amarelada. Eram flácidos e ocupavam cerca de 40% a 50% do celoma. Os maiores percentuais de ovários esvaziados foram observados nos meses de dezembro com 10%, janeiro com 12%, fevereiro 43,5% e agosto com 50%.

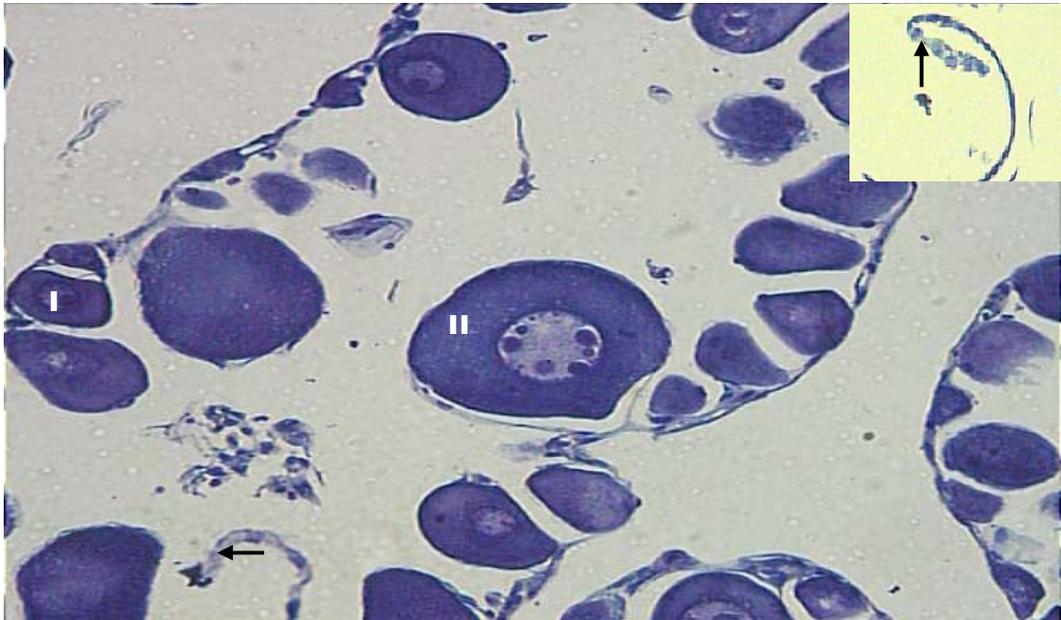


Figura 11- Fotomicrografia de um ovário esvaziado (pós-desova); oócitos I e II, folículos esvaziados (setas). Coloração HE. Aumento 20X. Insert: detalhe de um folículo vazio. Aumento da objetiva 40X.

Na análise histológica, foram encontradas oogônias, oócitos do estoque de reserva (oócitos II), e eventualmente oócitos maduros. A peculiaridade

de gônadas neste estágio foi a grande ocorrência de folículos vazios (pós-ovulados) (Figuras 11 e 12).

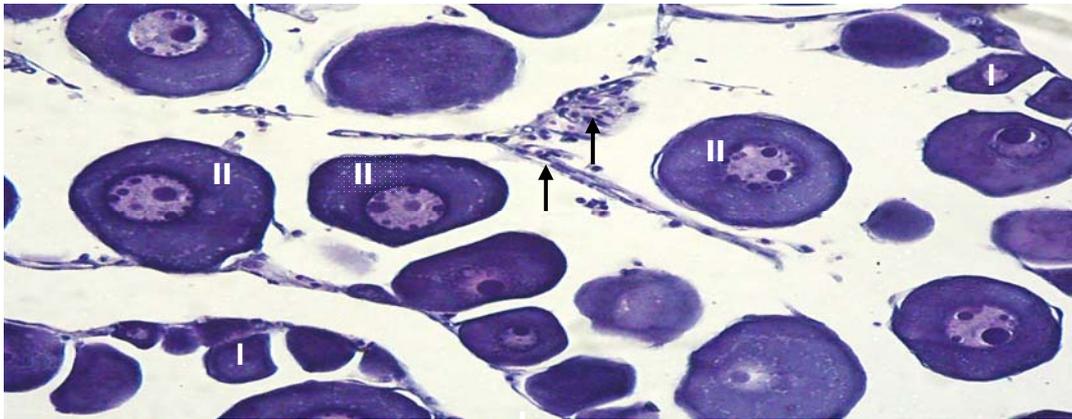


Figura 12- Fotomicrografia de um ovário esvaziado (pós-desova); lamelas ovíferas com oócitos I e II, cordões de células foliculares esvaziados (setas). Coloração HE. Aumento da objetiva 20X.

4.5 Localização de testículos na cavidade celomática

Os testículos da pescada são órgãos pares, filiformes e estão situados na parte dorsal do celoma ao qual são mantidos fixos através do mesórquio. Mantêm-se separados em quase toda sua extensão, mas na extremidade caudal de cada órgão existe uma estrutura onde os espermatozoides são armazenados, o ducto espermático. A união das gônadas na extremidade caudal é resultado da união desses ductos e culmina na formação de um único ducto que desemboca na papila urogenital localizada posteriormente à abertura anal.

Histologicamente, os testículos são revestidos por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, a túnica albugínea. Esta emite septos para o interior do testículo formando túbulos seminíferos enovelados. Junto à parede dos túbulos, apóiam cistos de células germinativas. Cada cisto é formado por prolongamentos citoplasmáticos de células de Sertoli e composto por células no mesmo estágio de maturação. De cada testículo, emerge um ducto espermático que desemboca na papila urogenital, localizada posteriormente à abertura anal (Figura 13).

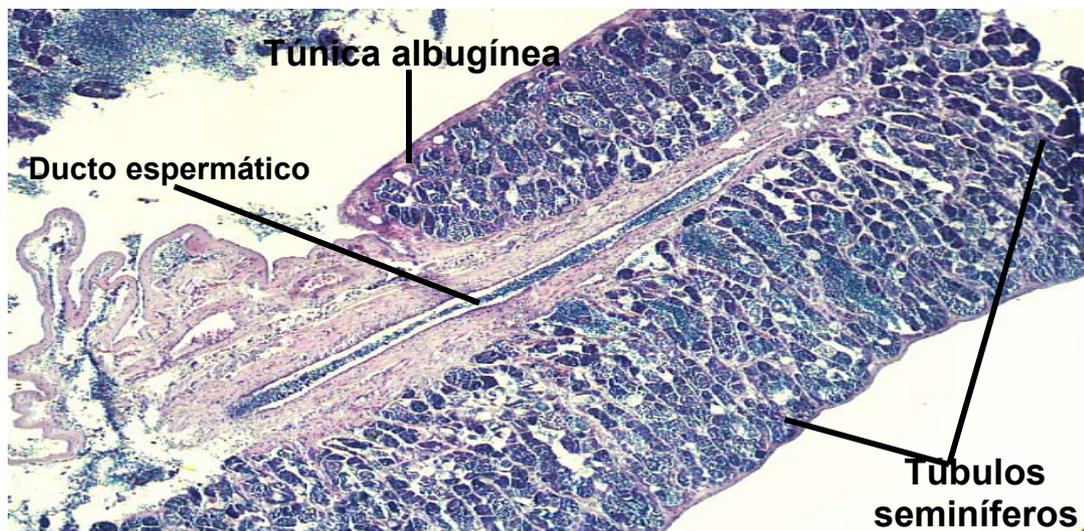


Figura 13- Fotomicrografia mostrando a organização estrutural do testículo, no qual são evidenciados os túbulos seminíferos, a túnica albugínea, o ducto espermático. Coloração HE. Aumento da objetiva 10X.

4.6 Análises Macro e Microscópica da Escala de Maturação Gonadal de Machos

De acordo com os aspectos macro e microscópicos dos testículos, foram caracterizados quatro estádios de maturação gonadal ao longo de um ciclo reprodutivo da pescada: 1-Repouso; 2- Maturação (2.1– Maturação inicial; 2.2– Maturação final; 3– Maduro; 4– Esvaziado ou parcialmente esvaziado.

4.6.1 Testículos em Repouso

Macroscopicamente as gônadas se apresentavam translúcidas e pouco volumosas. A análise histológica demonstrou que, neste estágio, os testículos apresentavam túbulos seminíferos reduzidos, no interior dos quais foram encontradas espermatogônias primárias e cistos de espermatogônias secundárias (Figura 14). Esse estágio foi característico dos meses de março, abril e setembro, com média de espermatogônias primárias por túbulo de $5,22 \pm 1,23$ enquanto que a média de espermatogônias secundárias por cisto foi de $35,03 \pm 6,44$.

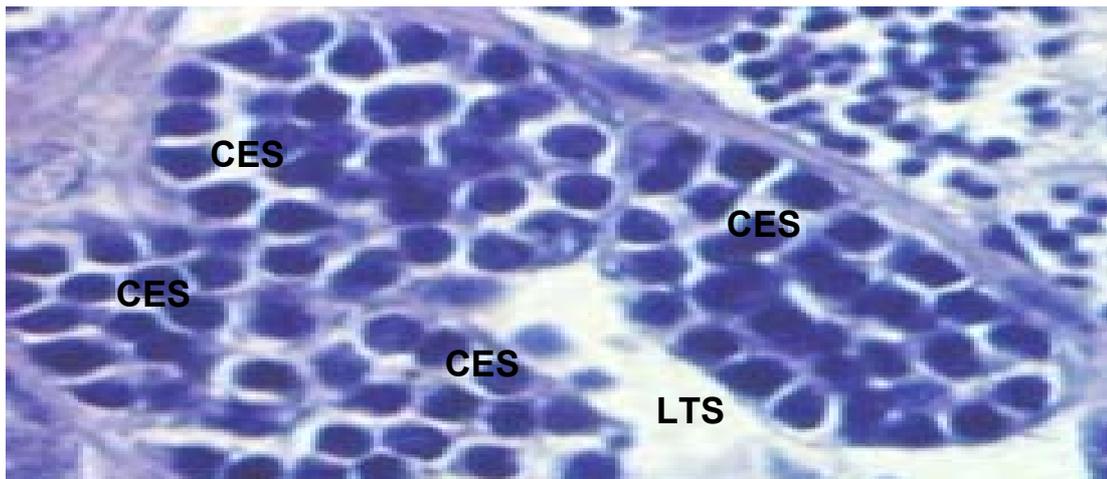


Figura 14- Fotomicrografia de cistos de espermatogônias secundárias (CES) no testículo de um animal em estado de repouso; luz do túbulo seminífero (LTS). Coloração HE. Aumento da objetiva 100X

4.6.2 Testículos em Maturação

Macroscopicamente os testículos tinham aspecto branco-leitoso e eram mais volumosos que aqueles do estágio anterior. As características

microscópicas observadas nas gônadas propiciaram a divisão deste estágio em dois sub-estádios:

4.6.2.1 Testículos em Maturação Inicial

Microscopicamente os testículos passavam a apresentar um considerável aumento em virtude da proliferação das células germinativas no interior dos túbulos seminíferos. Todos os tipos celulares se fizeram presentes neste estágio de maturação gonadal, mas as células que predominavam eram espermatogônias secundárias ($\mu = 43,31 \pm 11,32$), espermatócitos ($\mu = 100,58 \pm 32,15$) e as espermatídes ($\mu = 220,91 \pm 71,86$). Foi possível identificar espermatozóides na luz dos túbulos (Figura 15).

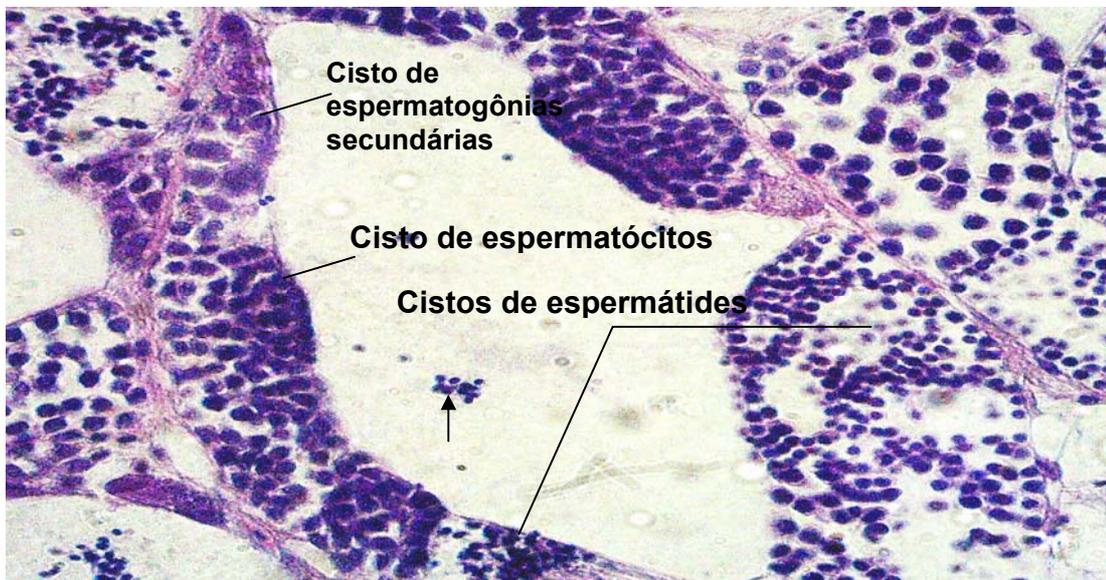


Figura 15- Fotomicrografia de testículo em maturação inicial no qual é evidenciado um túbulo seminífero contendo cistos de espermatogônias, cistos de espermatócitos e cistos de espermatídes. É possível notar a presença de alguns espermatozóides recém-lançados na luz do lume tubular (seta). Coloração HE. Aumento da objetiva 40X

4.6.2.2 Testículos em Maturação Final

Microscopicamente os túbulos seminíferos eram mais volumosos e repletos de células germinativas. Todos os tipos celulares estavam presentes, porém predominavam as espermatídes ($360,91 \pm 88,86$). Este estágio culminava com o rompimento dos cistos de espermatídes em final de diferenciação, com a conseqüente eliminação dos espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos, fato que caracterizava o início do penúltimo estágio de diferenciação testicular, ou seja, o estágio maduro (Figura 16).

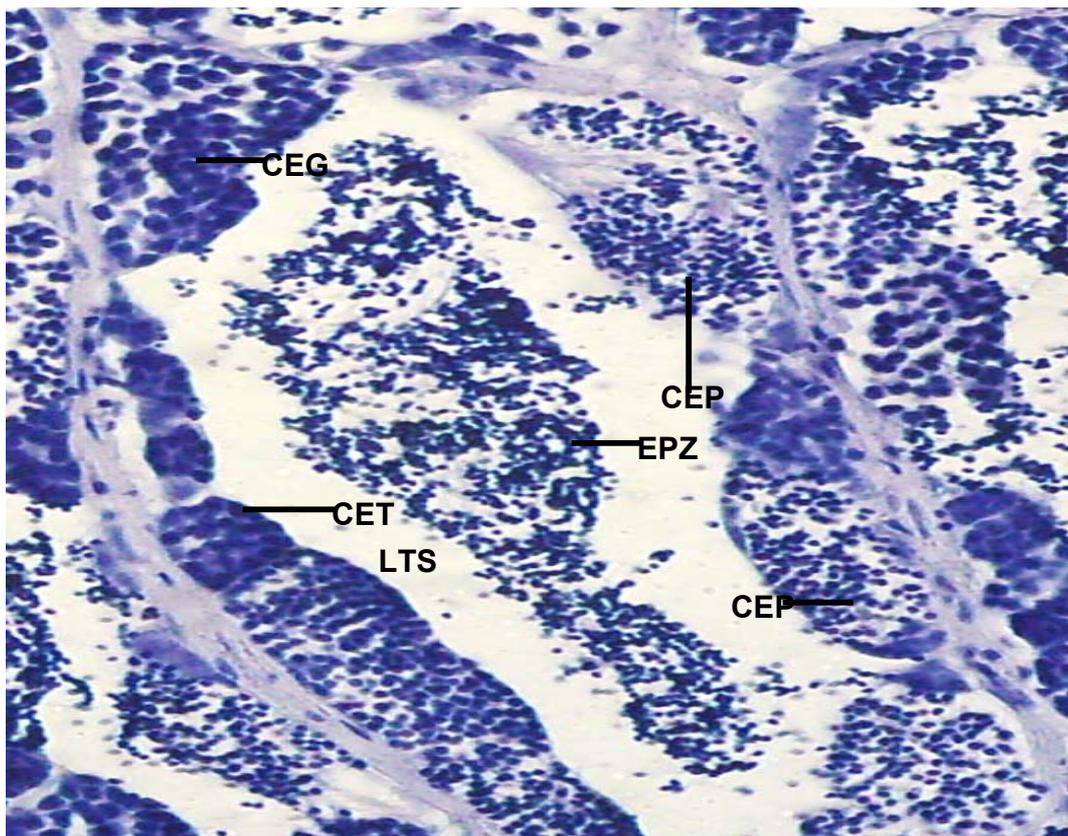


Figura 16- Fotomicrografia de um testículo em maturação final, detalhe de um túbulo seminífero preenchido por cistos de espermatogônias secundárias (CEG); cisto de espermatócitos (CET); cistos de espermatídes (CEP); espermatozóides (EPZ); luz do túbulo seminífero (LTS). Coloração HE. Aumento da objetiva 40X.

O direcionamento dos espermatozoides para o ducto espermático demonstrou ser um processo gradual. Contudo, assim que essas células eram liberadas no lúmen, aparentemente não ocorria o direcionamento imediato das mesmas para o referido ducto. Esse fato foi confirmado nos túbulos seminíferos repletos de espermatozoides durante o estágio no qual as gônadas se encontravam maduras (Figura 17).

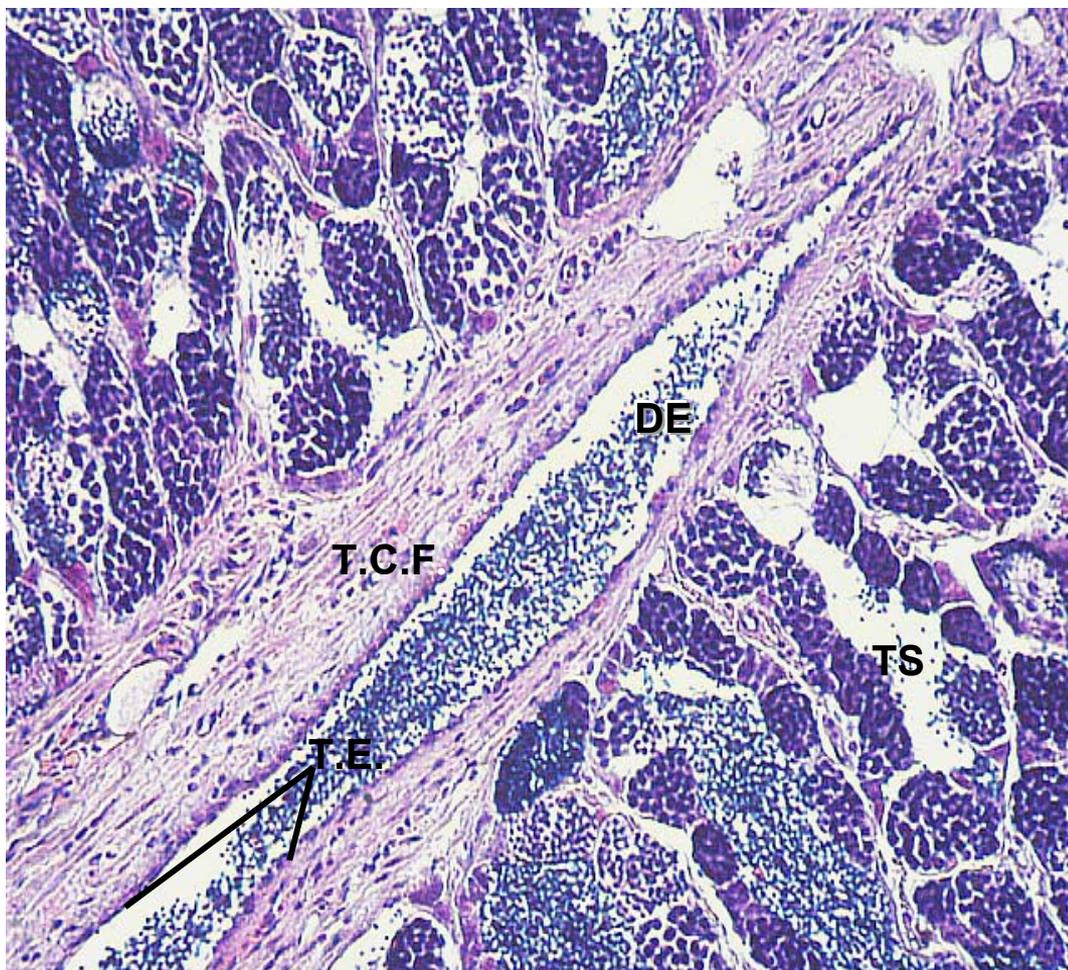


Figura 17- Fotomicrografia demonstrando detalhes do ducto espermático (DE) preenchido parcialmente pela massa de espermatozoides; tecido conjuntivo frouxo (T.C.F.); tecido epitelial que reveste o ducto (T.E.); túbulos seminíferos (TS). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 20X.

4.6.3 Testículos Maduros

Microscopicamente, este estágio apresentou algumas peculiaridades consideravelmente pontuais, tais como, a grande quantidade de espermatozoides na luz dos túbulos seminíferos e que passavam a ocupar cerca de 70% dos referidos túbulos. Ao longo deste estágio, os espermatozoides foram direcionados para o ducto espermático, onde são armazenadas até o momento da espermição, ou seja, liberação dos espermatozoides para o meio externo (Figura 18).

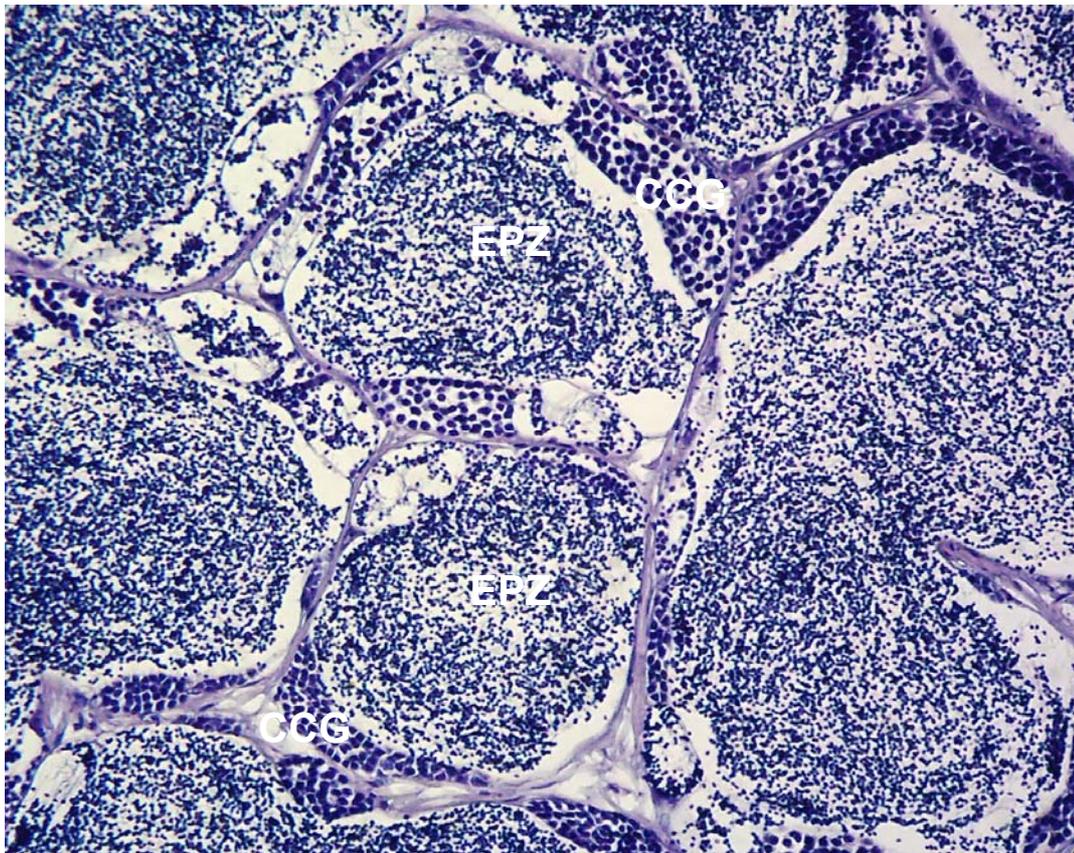


Figura 18- Fotomicrografia de um testículo maduro contendo túbulos seminíferos repletos de espermatozoides (EPZ); e cistos de células germinativas (CCG). Coloração HE. Aumento da objetiva 20X.

4.6.4 Testículos Esvaziados ou Parcialmente Esvaziados

A análise histológica demonstrou poucos cistos de espermatogônias secundárias, espermatócitos e espermátides. Na luz dos túbulos seminíferos foram encontrados espermatozóides que não foram direcionados para o ducto espermático (Figuras 19 e 20).

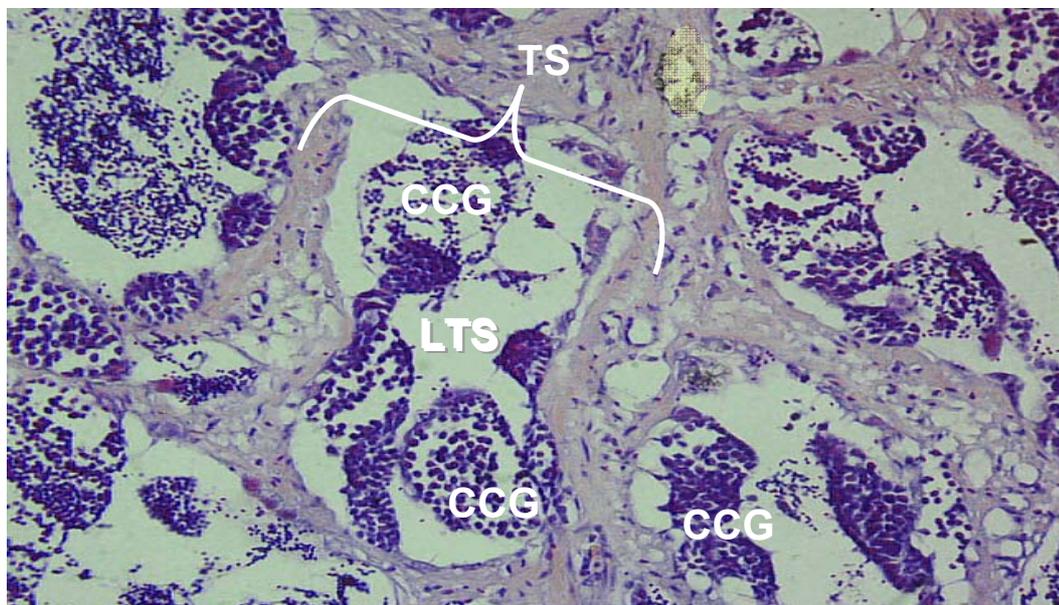


Figura 19- Fotomicrografia de testículos contendo túbulos seminíferos esvaziados ou parcialmente esvaziados (TS); luz do túbulo seminífero (LTS); cistos de células germinativas (CCG). Coloração HE. Aumento da objetiva 40X.

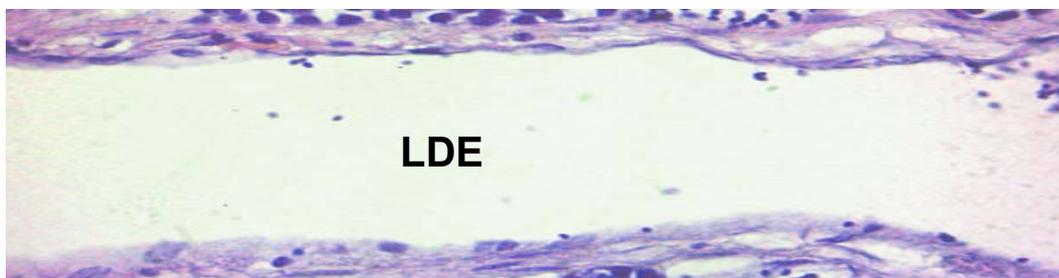


Figura 20- Fotomicrografia do ducto espermático esvaziado ou pós-desova. Luz do ducto espermático (LDE) antes preenchida pela massa de espermatozóides. Coloração HE. Aumento da objetiva 40X.

4.7 Quantificação da espermatogênese

A análise das médias de células germinativas obtidas entre fevereiro de 2004 a fevereiro de 2005 revelou a frequência que cada tipo celular apresenta durante o ciclo reprodutivo ao longo do ano (Figura 21).

Os dados obtidos da quantificação dos núcleos de células germinativas de cada dez túbulos seminíferos, por animal, indicaram a alternância de tipos celulares predominantes ao longo do ciclo reprodutivo. Contudo, células como espermatogônias primárias e células de Sertoli aparentemente não demonstraram grandes variações numéricas ao longo do ciclo, sendo que a menor média dessas espermatogônias ocorreu no mês de dezembro ($3,0 \pm 1,22$) e a maior no mês de maio ($7,83 \pm 3,31$), e a média geral ao longo do ciclo foi de $4,4 \pm 1,61$. Já a menor média de células de Sertoli foi observada no mês de dezembro ($5,1 \pm 1,81$) enquanto que a maior média se observou no mês de setembro ($7,8 \pm 3,42$), não obstante, a média geral no ciclo foi de $6,01 \pm 0,89$.

No que concerne à frequência dos outros tipos celulares, a análise quantitativa revelou grande predominância de espermátides nos meses em que a espécie demonstrou estar com gônadas em maturação (maio, junho, setembro, outubro e novembro) com valores médios de $166,17 \pm 46,30$ (54,34% da área tubular); $115,25 \pm 48,56$ (27,41% da área tubular); $346,8 \pm 192,94$ (59% da área

tubular); $194, 27 \pm 62,31$ (38,67% da área tubular); $253,34 \pm 176,62$ (32% da área tubular), respectivamente.

Não obstante, os valores percentuais das espermatídes decaíram proporcionalmente com o aumento do número de espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos, fato que coincidiu com os meses nos quais a espécie aparentemente atingiu o estágio de gônadas maduras. Nesse estágio, os valores percentuais que os espermatozóides ocupavam nos túbulos seminíferos foram de 70% no mês de dezembro, 50% em janeiro e 70% em julho (Figura 21).

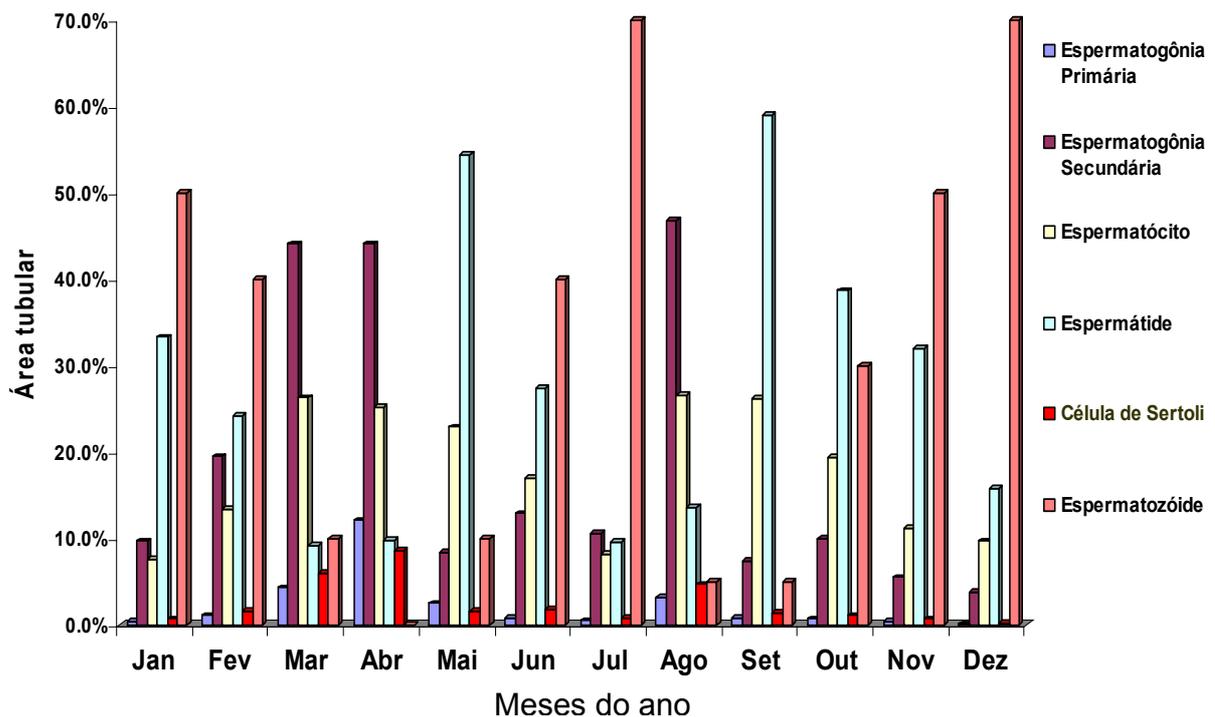


Figura 21- Valores percentuais de espermatogônias primárias e secundárias, espermatócitos, espermatídes espermatozóides e células de Sertoli por túbulo seminífero no período de fevereiro de 2004 a fevereiro de 2005.

A análise comparativa entre os valores da Δ RGS de machos com o estágio maduro (julho, dezembro e janeiro) indicou a existência de forte correlação positiva entre as referidas variáveis ($r= 0.8921$; $p= 0.0026$). (Figura 22).

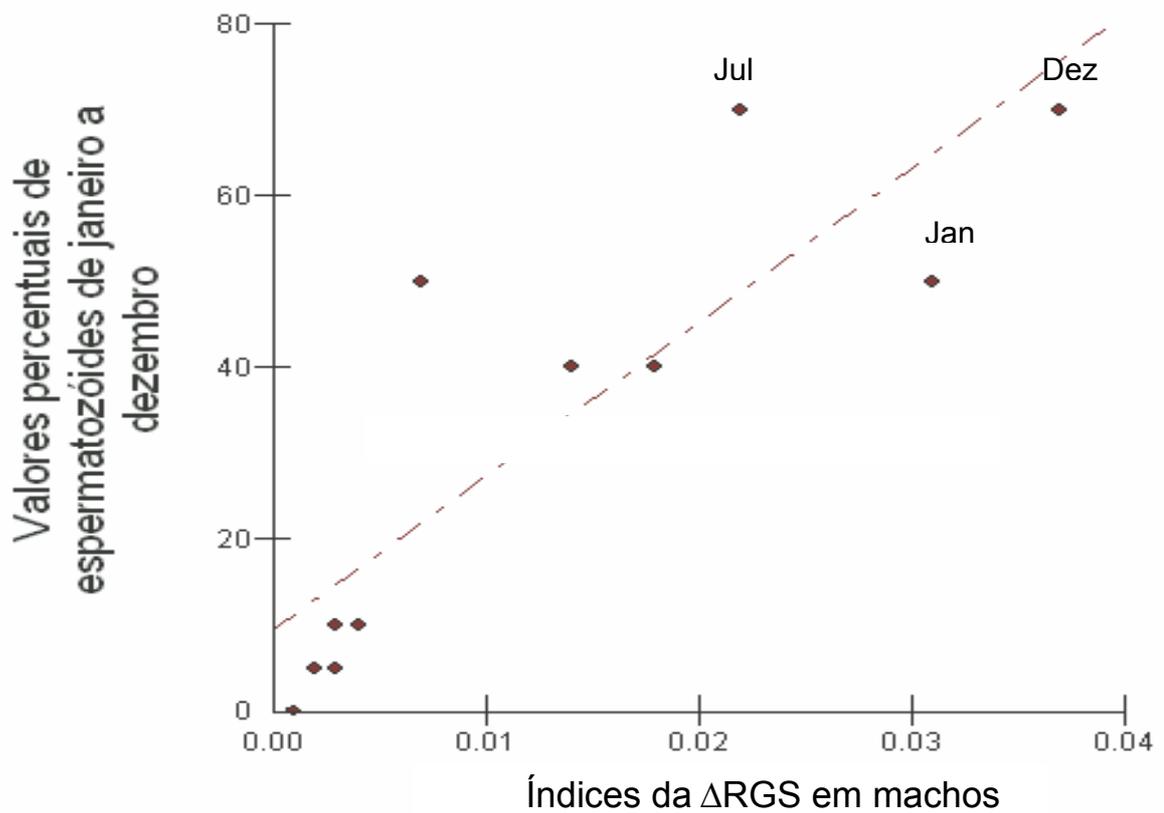


Figura 22- Correlação linear de Pearson entre valores percentuais de espermatozoides e Δ RGS♂

Não obstante, se aplicando o teste paramétrico de Pearson entre os valores da ΔRGS com os valores percentuais de espermatozóides notou-se forte correlação positiva entre as referidas variáveis ($r= 0.8529$; $p= 0.0004$). (Figura 23).

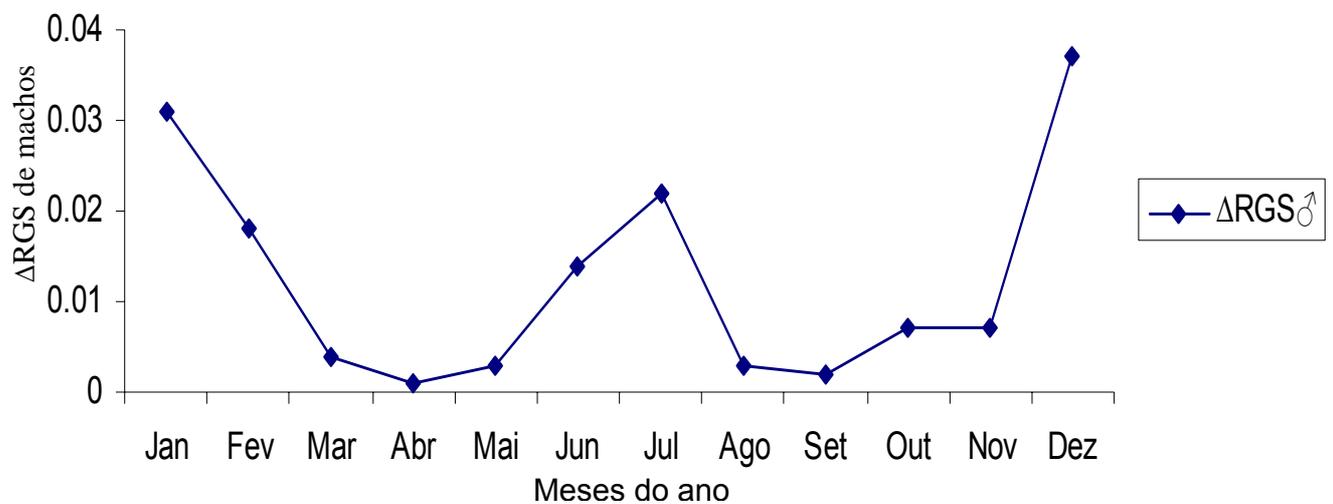


Figura 23- Valores mensais da ΔRGS de machos de pescadas ao longo de um ciclo reprodutivo. Os meses de maiores valores de ΔRGS correspondem aos meses de espermição.

4.8 Análise Histomorfométrica da População de Células Germinativas Masculinas e Células de Sertoli

4.8.1 Espermatogônias Primárias

As espermatogônias primárias foram as maiores células observadas na população germinativa da pescada. Ao microscópio óptico elas se apresentaram individualizadas e próximas à parede do túbulo. O núcleo dessas células se caracterizou por ser levemente basófilo, central e com diâmetro médio de $8,4 \pm 3,39 \mu\text{m}$ e nucléolo ligeiramente excêntrico. O citoplasma era relativamente abundante, porém pouco nítido (Figura 24).

Após sofrerem divisões mitóticas essas células eram encistadas por prolongamentos citoplasmáticos das células de Sertoli e originavam outro tipo de espermatogônias com características morfológicas significativamente distintas que eram as espermatogônias secundárias.

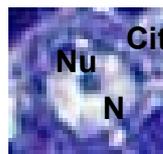


Figura 24- Fotomicrografia de uma espermatogônia primária. Citoplasma (Cit); núcleo (N); nucléolo (Nu). Coloração HE. Aumento da objetiva 100X.

4.8.2 Espermatogônias Secundárias

Estas células foram encontradas em número variável dentro dos cistos. Mostraram-se menores que as primárias e apresentaram diâmetro nuclear médio de $6,3 \pm 2,44\mu\text{m}$. O núcleo basófilo era relativamente volumoso, com um ou dois nucléolos. O citoplasma das espermatogônias secundárias demonstrou ser escasso e de difícil visualização (Figura 25).

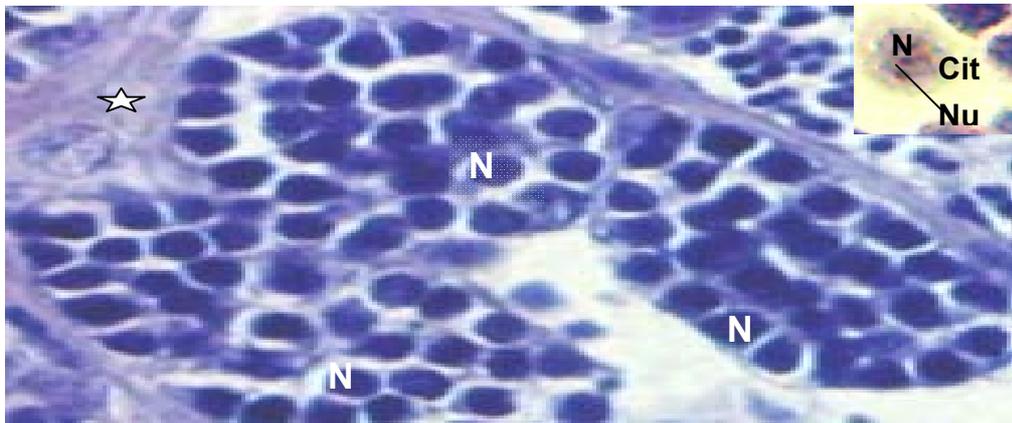


Figura 25- Fotomicrografia de um cisto de espermatogônias secundárias. Núcleo (N). Insert: detalhe de uma espermatogônia secundária. Núcleo (N); Nucléolos (Nu); Citoplasma (Cit); Célula de Sertoli (☆). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 100X.

4.8.3 Espermatócitos

Os espermatócitos apresentaram diâmetro nuclear médio de $4.6 \pm 1.07\mu\text{m}$, portanto, eram células com tamanho inferior que aquele registrado nas espermatogônias secundárias. Também se encontravam em número variável no interior de cistos. Essas células possuíam núcleo basófilo e de contorno regular. O citoplasma mostrou-se escasso e de difícil visualização. Não foi possível fazer a distinção e classificação entre espermatócitos primários e secundários (Figura 26).

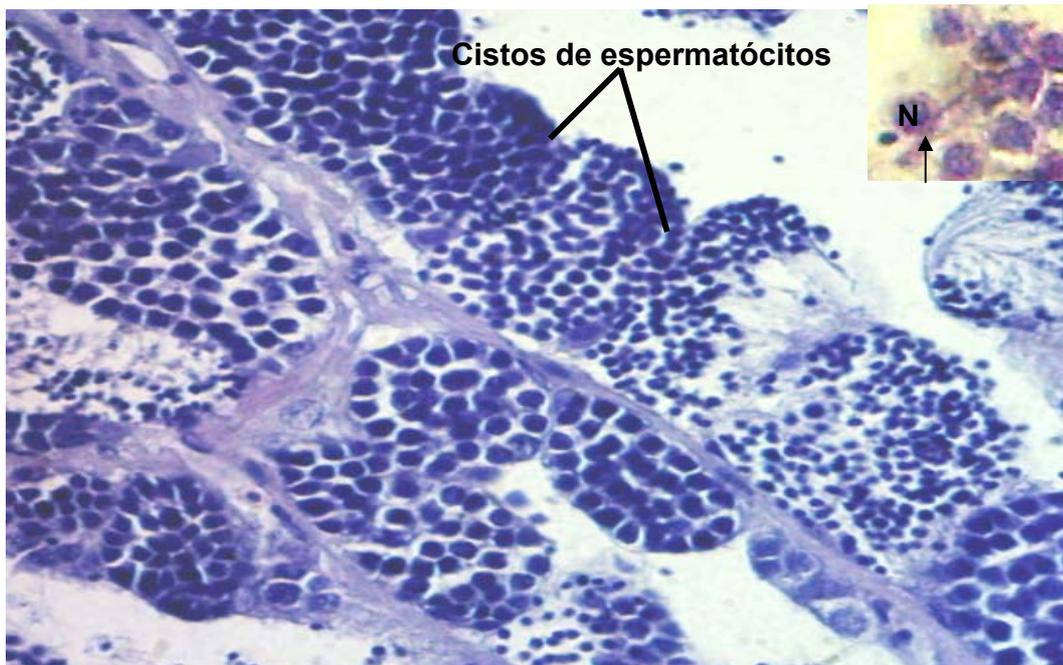


Figura 26- Fotomicrografia de cistos de células germinativas no interior de túbulos seminíferos. Detalhe de cistos de espermatócitos. Inset: detalhe de espermatócitos, núcleo (N), citoplasma (seta). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 100X.

4.8.4 Espermátides

Originadas a partir dos espermatócitos secundários, as espermátides eram células esféricas e também encontradas no interior de cistos. As primeiras populações apresentavam diâmetro nuclear médio de $3.2 \pm 0.4\mu\text{m}$, logo, inferior ao diâmetro dos espermatócitos (Figura 27).

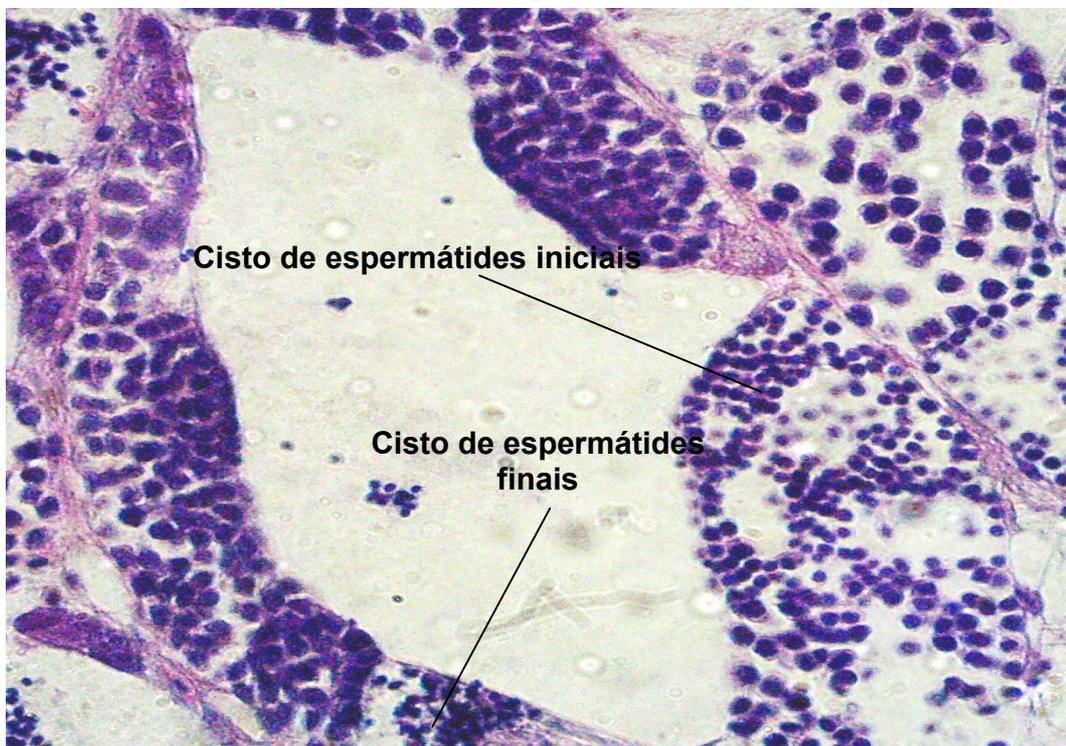


Figura 27- Fotomicrografia de um túbulo seminífero sendo ocupado por cistos de células germinativas. Detalhe de um cisto de espermátides iniciais e um cisto de espermátides finais. Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

Ao longo do processo de espermiogênese (diferenciação dessas células para espermatozóides) observou-se nítida diminuição do diâmetro nuclear médio. Essa diminuição deve-se à condensação nuclear (compactação da

cromatina) que ocorre durante o referido evento. Isso fez com que as gerações finais ou espermátides em diferenciação final apresentassem núcleos menores e com cromatina mais condensada, com diâmetro médio de 2,5 μm , portanto, ligeiramente menor que aquele observado nas populações iniciais (Figura 28).

No final da espermiogênese ocorreu o adelgaçamento dos prolongamentos citoplasmáticos que formavam os cistos de espermátides. Esse processo culminou com o rompimento desses prolongamentos e liberação de espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos (Figura 28).

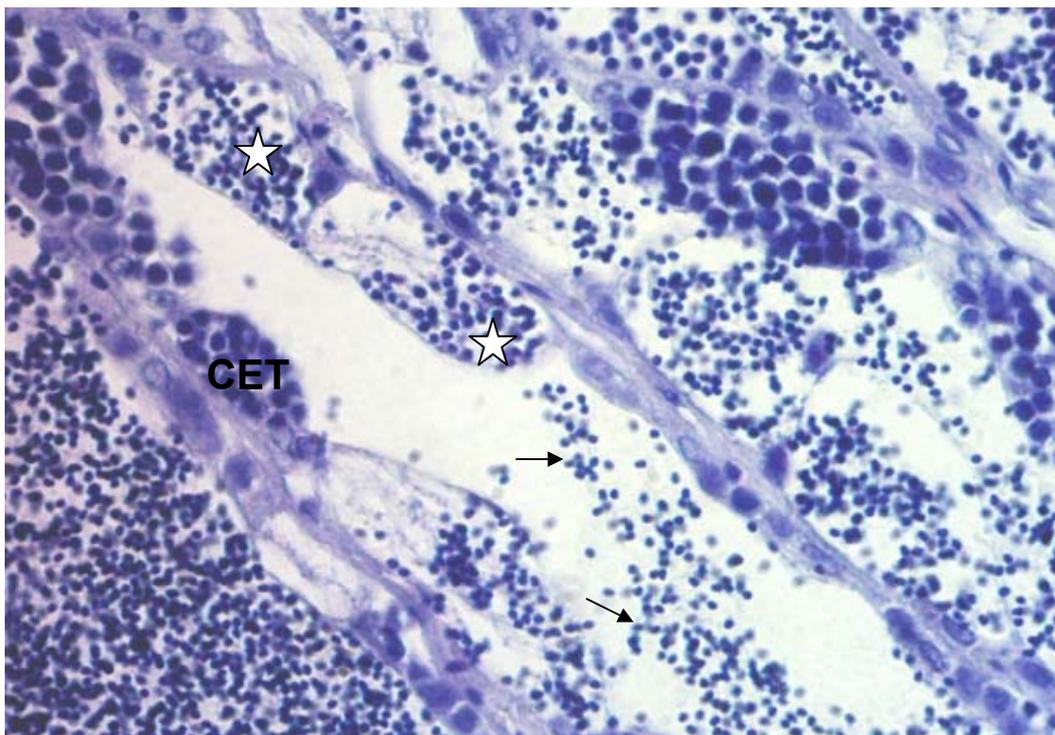


Figura 28- Fotomicrografia de túbulos seminíferos: cisto de espermátides em final de diferenciação ou espermátides finais (☆), cisto de espermatócitos (CET); espermatozóides (setas). Coloração HE. Aumento da objetiva 40X.

4.8.5 Espermatozóides

Essas foram as menores células da linhagem germinativa com diâmetro nuclear médio de 1.6 μ m, sendo que esse núcleo era fortemente basófilo. Foram as únicas células da linhagem gamética encontradas fora dos túbulos seminíferos, ou seja, são armazenadas no ducto espermático (Figura 29).

Morfológicamente, se apresentavam constituídos de três regiões, sendo uma cabeça arredondada, uma região equivalente à peça intermediária e uma cauda ou flagelo (Figura 29).

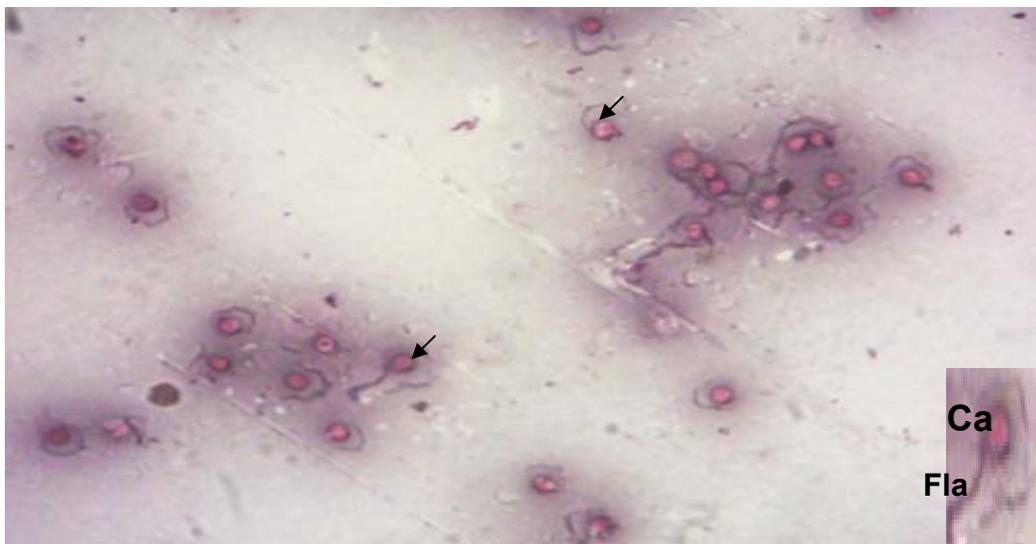


Figura 29- Esfregaço de espermatozóides de *P. squamosissimus*. Insert: detalhe da morfologia de um espermatozóide, em evidência a cabeça arredondada (Ca) e o flagelo (Fla). Coloração supravital. Aumento da objetiva 100X.

4.8.6 Células de Sertoli

Com exceção das espermatogônias primárias e espermatozóides, toda a população de células germinativas se encontrava envolvida por prolongamentos citoplasmáticos das células de Sertoli. Esses prolongamentos envolviam um grupo células germinativas que se encontravam em uma mesma fase de desenvolvimento espermatogênico. Tal fato se caracterizou com a formação de cistos de células germinativas (Figura 30).

A análise histológica das células de Sertoli indicou que as mesmas tinham núcleo levemente basófilo, com diâmetro nucleolar médio de $1.8\mu\text{m}$. O citoplasma aparentou ser escasso em volta do núcleo e projeta delgados prolongamentos, juntamente com a membrana plasmática, que vão delimitar e formar os cistos de células germinativas (Figura 30). A média dessas células, por túbulo seminífero, foi de $6,01 \pm 2,34$.



Figura 30- Fotomicrografia de um cisto de espermatogônias secundárias, delimitado pelos prolongamentos citoplasmáticos da célula de Sertoli. Citoplasma da Sertoli (Cit); núcleo da Sertoli (N). Insert: detalhes do citoplasma (Cit); núcleo (N) e nucléolo (Nuc) de uma célula de Sertoli. Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 100X.

4.9 Estádios do Ciclo do Epitélio Seminífero

5.9.1 Estádio 1 do Ciclo do Epitélio Seminífero

Através da análise histológica, este estágio caracterizou-se pela presença das espermatogônias primárias e secundárias nos túbulos seminíferos. Ao microscópio óptico, as espermatogônias primárias, que são as maiores células da linhagem germinativa ($8,4 \pm 3,39\mu\text{m}$), apresentaram-se individualizadas e próximas à parede do túbulo seminífero.

As espermatogônias secundárias encontravam-se dentro de cistos e com diâmetro nuclear médio de $6,3 \pm 2,44\mu\text{m}$. No final deste estágio, essas células entravam em intérfase que antecedia a primeira divisão meiótica e se diferenciavam para espermátócitos primários. Este fato ditava o final deste estágio, bem como, caracterizava o início do próximo (Figura 31).

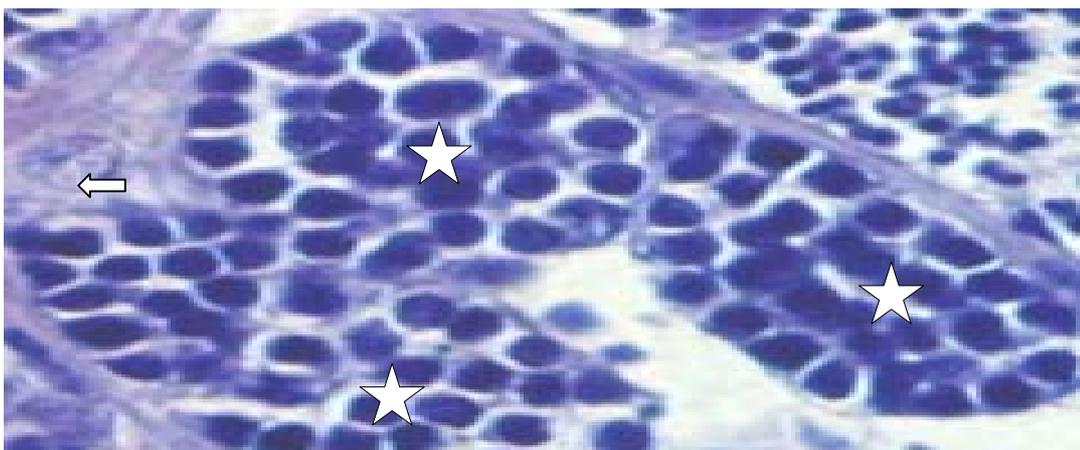


Figura 31- Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 1 do CES. São evidenciados uma célula de Sertoli (\Leftarrow) e cistos de espermatogônias secundárias (\star). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 100X.

4.9.2 Estádio 2 do Ciclo do Epitélio Seminífero

Com a proliferação e diferenciação das espermatogônias secundárias para espermatócitos, no final do estágio anterior. A partir desse evento, notavam-se túbulos seminíferos contendo espermatogônias primárias, cistos de espermatogônias secundárias e o surgimento de cistos de espermatócitos, que era o evento marcante deste estágio. Esses espermatócitos possuíam um diâmetro nuclear médio de $4,6 \pm 1,07\mu\text{m}$ (Figura 32).

O final deste estágio era marcado pelo surgimento dos primeiros cistos de espermátides nos túbulos seminíferos. Este fato ditava também o início do próximo estágio do ciclo do epitélio seminífero na pescada (Figura 32).

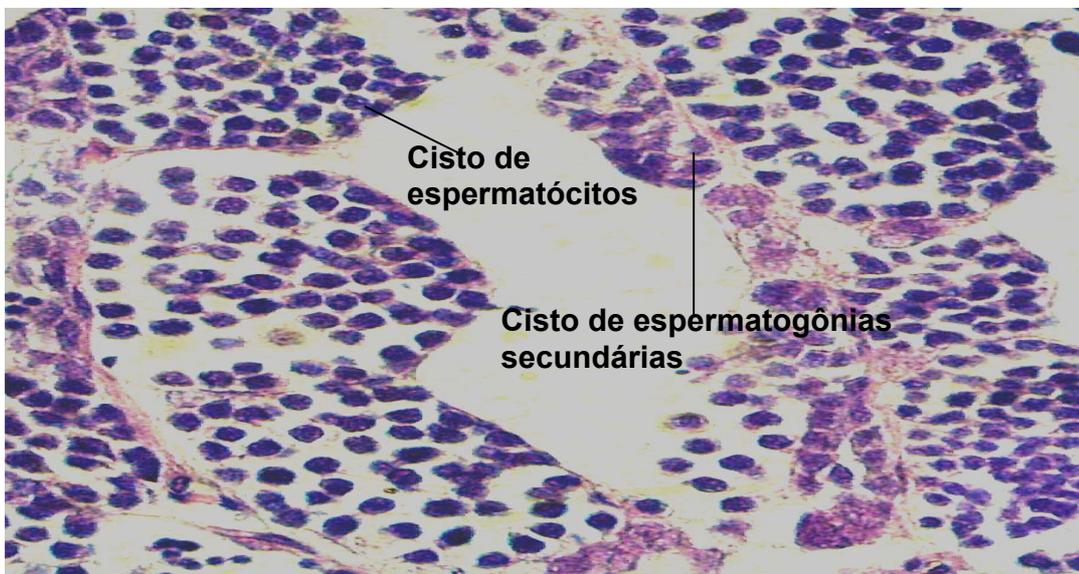


Figura 32- Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 2 do CES. São evidenciados cistos de espermatogônias secundárias e cistos de espermatócitos. Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

4.9.3 Estádio 3 do Ciclo do Epitélio Seminífero

O surgimento dos primeiros cistos de espermátides no interior dos túbulos seminíferos foi o evento marcante e determinante do início desse estágio. Assim sendo, os túbulos seminíferos no estágio 3 do CES eram compostos pela presença de espermatogônias primárias, cistos de espermatogônias secundárias e cistos de espermátides jovens ou recém-formadas (Figura 33).

O evento cronológico que marcava o final desse estágio e que ao mesmo tempo caracterizava o início do estágio posterior era o fato das espermátides iniciais se diferenciarem em espermátides finais. Esse fato proporcionava a presença de duas gerações de espermátides no estágio posterior (Figura 33).

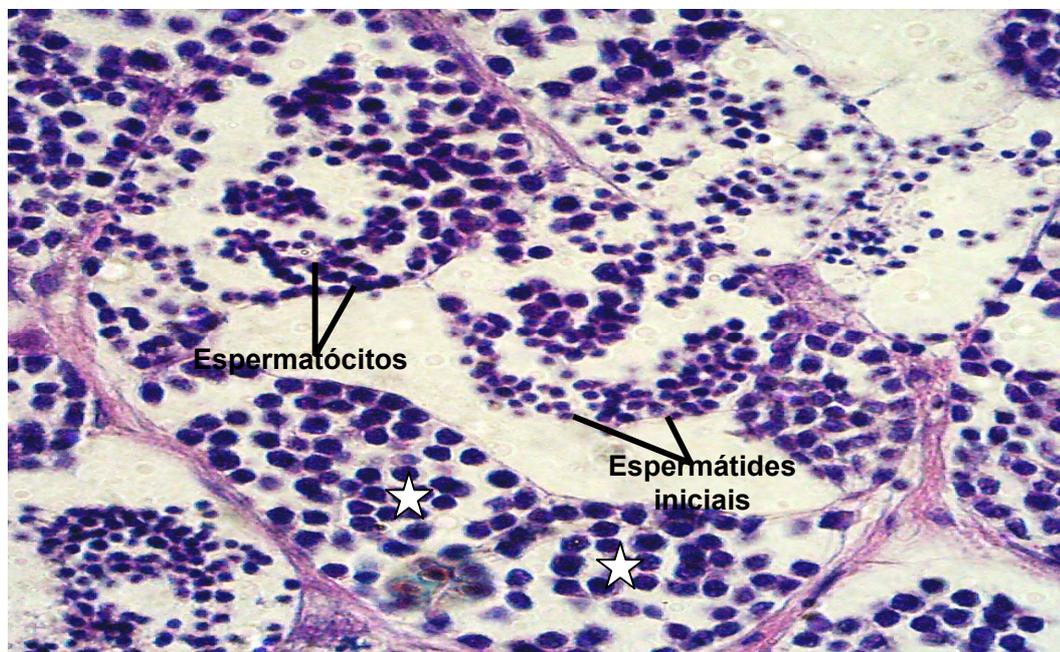


Figura 33- Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 3 do CES. São evidenciados cistos de espermatogônias secundárias (☆); cistos de espermatócitos; cistos de espermátides iniciais. Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

4.9.4 Estádio 4 do Ciclo do Epitélio Seminífero

Similarmente ao estágio 3, os túbulos seminíferos que se encontravam neste este estágio, também eram compostos de espermatogônias primárias, cistos de espermatogônias secundárias, espermatócitos e espermátides iniciais.

A característica marcante deste estágio foi a presença de duas populações de espermátides nos túbulos seminíferos. Logo, esses túbulos possuíam cistos de espermátides iniciais que apresentavam diâmetro nuclear médio de $3,2 \pm 0,4\mu\text{m}$. A outra população correspondia aos cistos de espermátides finais (em espermiogênese avançada ou final) cujo diâmetro médio era de $2,5\mu\text{m}$ (Figura 34). O rompimento destes últimos cistos e conseqüente liberação dos espermatozóides no lúmen tubular marcava o final do estágio.

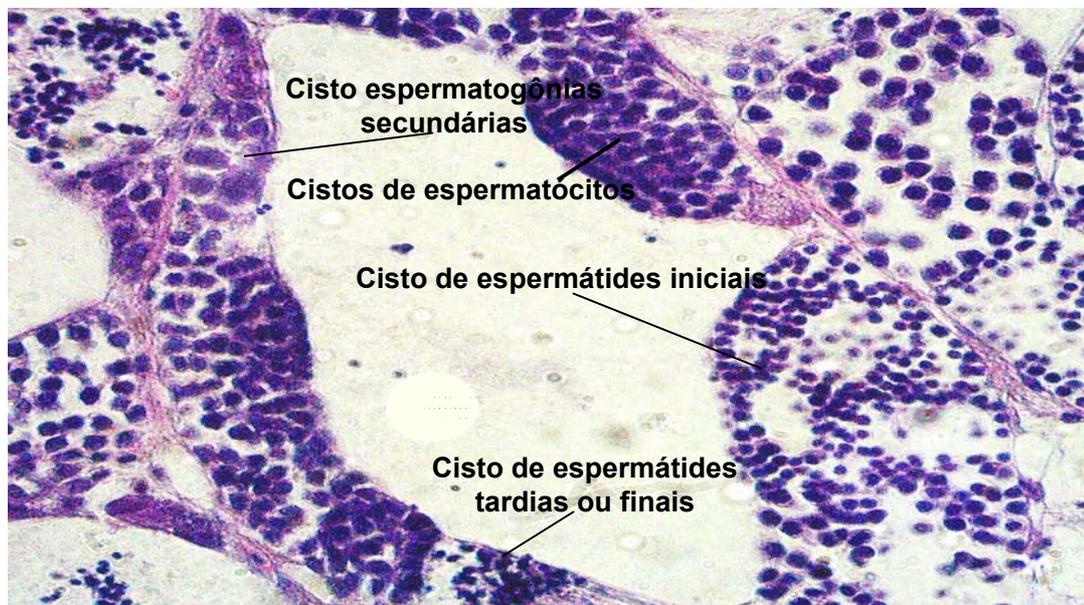


Figura 34- Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 4 do CES. São evidenciados cistos de espermatogônias secundárias, espermatócitos, espermátides jovens e finais. Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

4.9.5 Estádio 5 do Ciclo do Epitélio Seminífero

O início desse estágio era marcado pelo adelgaçamento e conseqüente rompimento dos prolongamentos citoplasmáticos das células de Sertoli que formavam cistos de espermatídes finais. Esse fato levava ao surgimento dos primeiros espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos (Figura 35).

Concomitantemente com surgimento dos espermatozóides, todos os tipos celulares presentes nos estádios anteriores também se faziam presentes nos túbulos seminíferos nesse estágio. Logo, todas as células da população gamética podiam ser encontradas em um único túbulo seminífero neste estágio (Figura 35).

O evento que marcava o final desse estágio era o considerável aumento de espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos. Isso era atribuído ao fato da continuidade dos eventos que ocorreram nos estágios anteriores.

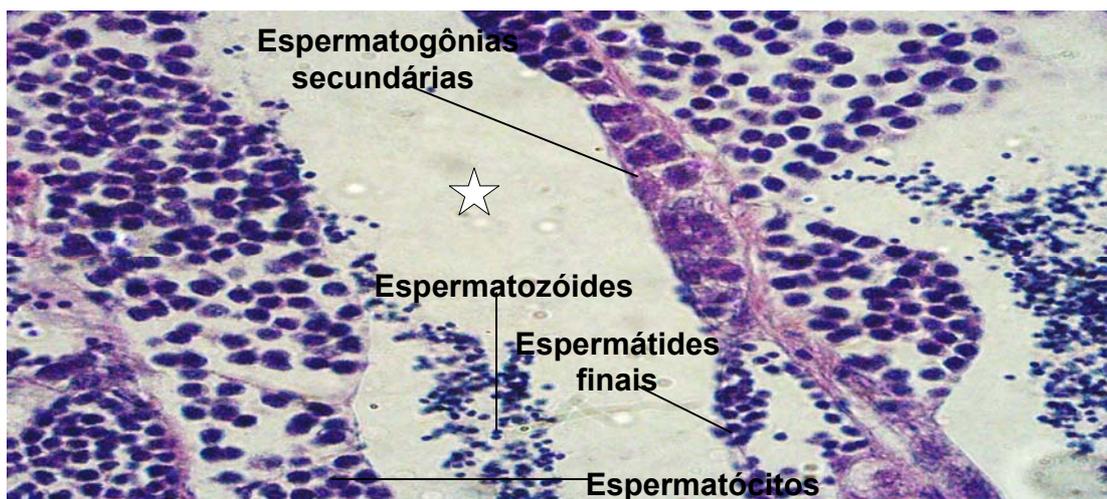


Figura 35- Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 5 do CES. Espermátogônias secundárias; espermátides finais; espermátocitos. À medida que os espermatozóides são formados eles se acumulam no lume tubular (☆). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

4.9.6 Estádio 6 do Ciclo do Epitélio Seminífero

As características histológicas do CES desse estágio incluíam a diminuição do número de cistos de espermatogônias secundárias, espermatócitos e espermatídes. Simultaneamente a essa diminuição constatou-se um aumento na quantidade de espermatozóides na luz do túbulo seminífero no referido estágio. Conseqüentemente, neste estágio, os túbulos seminíferos se apresentavam volumosos e repletos de espermatozóides (Figura 36).

Um dado importante deste estágio concerne ao fato de que o mesmo coincidia com o estágio maduro do desenvolvimento gonadal, o qual, por sua vez, teve forte correlação positiva com os maiores valores de RGS, que representaram os meses de espermição ou reprodução da espécie.

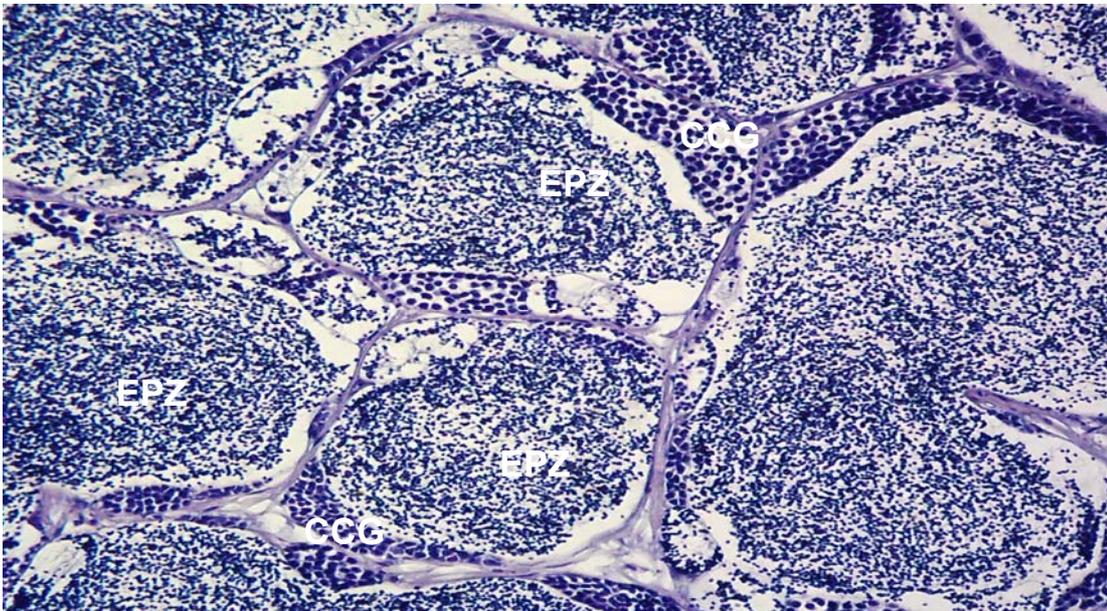


Figura 36- Fotomicrografia mostrando túbulos seminíferos no estágio 6 do CES da pescada. Cistos de células germinativas (CCG); espermatozóides (EPZ). Coloração HE. Aumento da objetiva 40X.

4.9.7 Estádio 7 do Ciclo do Epitélio Seminífero

Histologicamente, os túbulos seminíferos que se encontravam nesse estágio foram caracterizados pela presença de todos os tipos celulares. Tal como no estágio anterior, os espermatozoides eram as células mais numerosas. Contudo, a característica marcante desse estágio foi o início do direcionamento da grande massa de espermatozoides para o ducto espermático. Este fato proporcionava o surgimento de áreas claras (luz do lúmen), nos túbulos seminíferos, que eram preenchidas pelos espermatozoides (Figura 37).

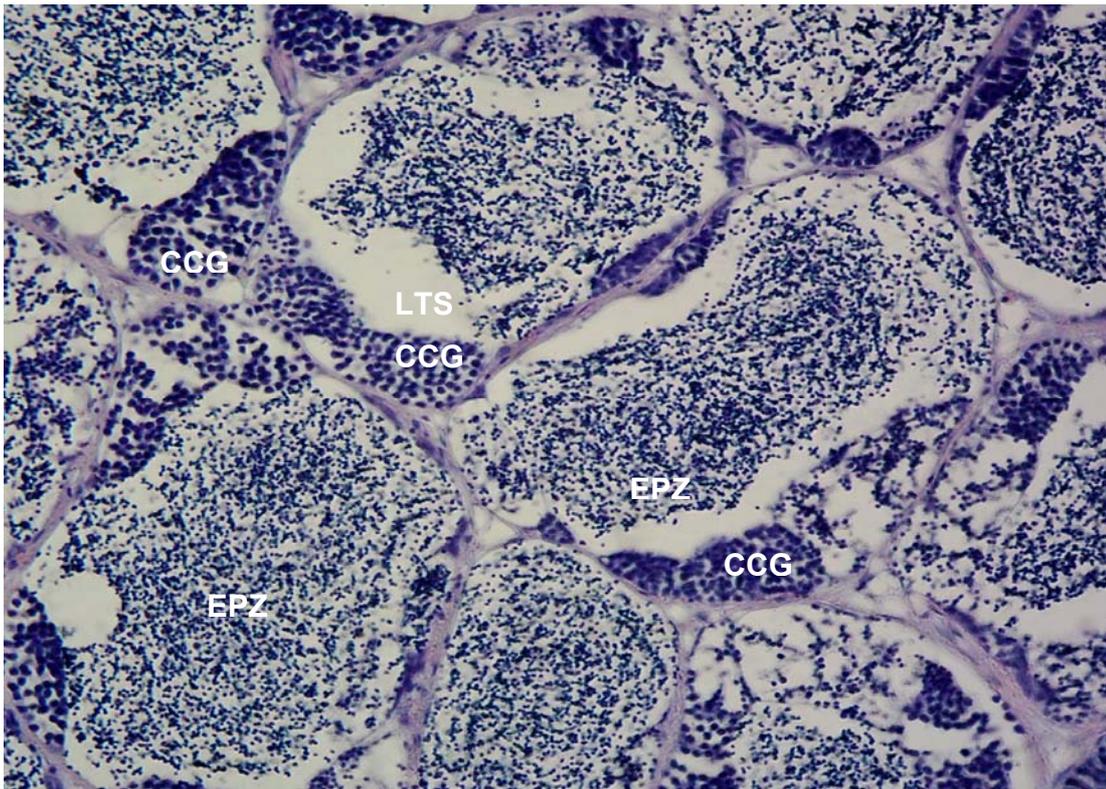


Figura 37- Fotomicrografia de túbulos seminíferos no estágio 7 do CES. Cistos de células germinativas (CCG); luz do túbulo seminífero (LTS); espermatozoides (EPZ). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

4.9.8 Estádio 8 do Ciclo do Epitélio Seminífero

Histologicamente este estágio se caracterizou como último do CES no testículo da pescada. No início desse estágio, finalizava-se o direcionamento da grande massa de espermatozoides para o ducto espermático (Figura 38).

Apesar de volumosos, os túbulos seminíferos se encontravam relativamente semi-esvaziados. Após o direcionamento da grande massa de espermatozoides para o ducto espermático, restavam apenas alguns cistos de espermatozoides para o ducto espermático, restavam apenas alguns cistos de espermatozoides, além de alguns espermatozoides. Após o esvaziamento dos espermatozoides do lúmen tubular, aparentemente ocorria o desprendimento de alguns cistos de células germinativas das paredes dos túbulos seminíferos que passavam a ocupar o lúmen dos referidos túbulos, antes preenchido pela massa de espermatozoides. Isso gerava uma ligeira desorganização tubular (Figura 38).

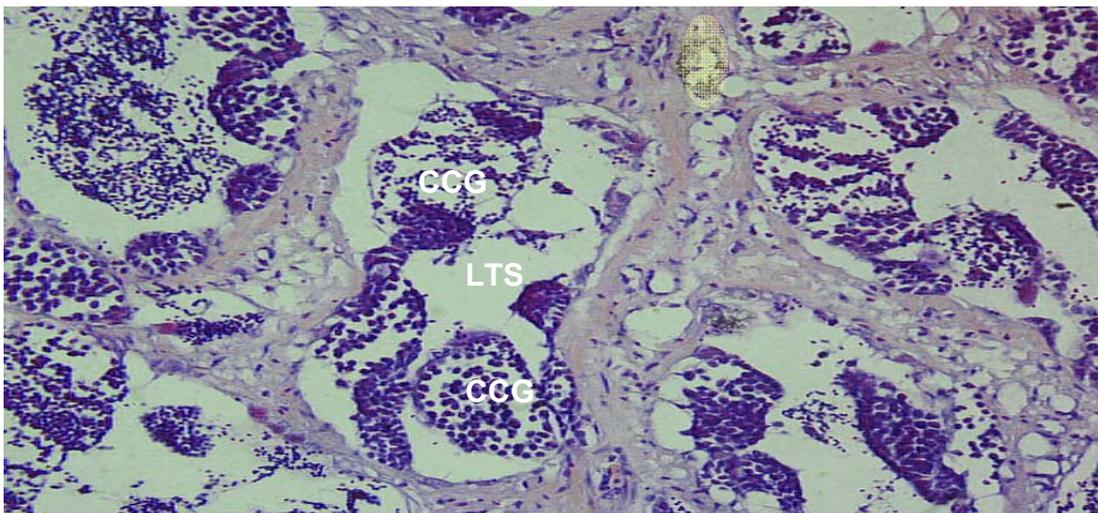


Figura 38- Fotomicrografia de um túbulo seminífero no estágio 8 do CES. Cistos de células germinativas não apoiados sobre a lâmina basal (CCG); luz do túbulo seminífero (LTS). Coloração Hematoxilina-Eosina. Aumento da objetiva 40X.

DISCUSSÃO

5.1 Atividade Pesqueira:

Alguns estudos têm demonstrado que a pesca extrativa aliada à degradação ambiental, aos poucos, afetou o equilíbrio de populações piscícolas e desse modo os estoques naturais das águas continentais e dos mares, que se constituíam na principal fonte de pescado, tiveram sua capacidade de produção drasticamente limitada (ANDRADE & YASUI, 2003).

Não obstante, GONÇALVES (2002) relatou que a produção de pescado, com base extrativista, mantém-se nos mesmos índices de produção registrados no início da década de 90, revelando que essa produção extrativista, além de não ter mais como crescer, mantenha a tendência de diminuição.

Essas informações não relatam a extinção de determinada espécie de peixe, mas sim, a diminuição dos seus estoques em alguns locais. Nesse aspecto, BARTHEM (1999) citou que no concernente à atividade pesqueira, não existem informações seguras sobre ameaças, desaparecimento ou mesmo extinção de espécies de peixes na Amazônia brasileira. Mas, o autor citou que tem ocorrido, com razoável freqüência, a diminuição ou mesmo o desaparecimento local de algumas espécies devido à atividade pesqueira intensiva ou a alguma alteração ambiental, como desmatamento da floresta marginal, mineração no canal de um rio ou represamento.

Alguns estudos parecem corroborar essas informações uma vez que revelam que algumas espécies da ictiofauna amazônica parecem estar sofrendo uma redução em seus estoques em virtude da sobre-exploração das mesmas (BARTHEM & PETRERE, 1995; ISAAC & RUFFINO, 1996).

As informações obtidas com os pescadores (moradores) da ilha do Capim, sobre a atividade pesqueira no rio Pará indicaram que, mesmo tendo um forte caráter de subsistência, esta parece ser um fator que pode estar influenciando para a aparente diminuição dos estoques locais de *P. squamosissimus*. Essa constatação parece ser corroborada pela diminuição qualitativa e quantitativa dos referidos estoques, bem como, pelo aumento do tempo médio, em horas diárias, que os pescadores locais dispensam para tal atividade nos últimos quinze anos.

É plausível que a referida diminuição esteja relacionada a fatores como a grande quantidade de redes de emalhar e ao elevado número de pescadores na região; e pela pesca ininterrupta ao longo dos doze meses do ano, não se respeitando o período reprodutivo da espécie. A somatória desses fatores pode ser uma das causas da diminuição dos estoques *P. squamosissimus* no rio Pará.

5.2 Ovários:

A organização estrutural concernente às características anatômicas e morfológicas dos ovários de *P. squamosissimus* é condizente com aquela descrita para um grande número de teleósteos (JAMES, 1946; BRAEKEVELT & McMILLAN, 1967; BHATTI & JAVAID, 1973; CARAMASHI *et al.*, 1982; VAZZOLER, 1996; RIDEOUT *et al.*, 1999). Embora em outros estudos realizados com teleósteos essa estrutura não se tenha mostrado nitidamente visível (BEACH, 1959).

Diferentes trabalhos com peixes teleósteos demonstraram haver desova ao longo de todo o ano em várias espécies, enquanto outros relataram uma característica sazonal da desova. Dentre algumas espécies da família Sciaenidae, LOWE-McCONNEL (1966) sugeriu que a reprodução de *Micropogon furnieri* não apresenta um caráter sazonal, ou seja, é uma reprodução contínua, uma vez que este pesquisador registrou a ocorrência tanto de fêmeas maduras como de alevinos durante o ano todo. Não obstante, nos estudos de DANERI (1957) e HAIMOVICI (1977) com o *Micropogon opercularis* foi descrito um ciclo anual para a espécie, com desova no verão. Segundo ALMEIDA-PEREZ (1972), a corvina *Cynoscion maracaibaensis* (Pisciformes, Sciaenidae) desova ao longo de todo o ano, mas apresenta um período principal de desova de janeiro a maio (verão/outono) e períodos secundários em junho e setembro (inverno/primavera).

Em *P. squamosissimus*, o acompanhamento do ciclo reprodutivo anual demonstrou que a espécie possui dois grandes picos de desova com intensidades diferentes. O maior pico de desova ou desova principal ocorre nos meses de janeiro e fevereiro (inverno), na qual um grande número de indivíduos se encontra com gônadas maduras. O segundo maior pico de desova ocorre no mês de julho (verão), com menor número de animais com gônadas maduras.

Quanto à maturação das gônadas de peixes, existe uma relativa heterogeneidade de escalas adotadas para descrevê-la. Contudo, a escala de maturação mais difundida entre os pesquisadores adota os estádios gonadais de imaturo, repouso, maturação, maduro e esvaziado.

Em relação à caracterização desses estádios, CARAMASHI e colaboradores (1982) relataram que em *Hoplias malabaricus* não há verificação macro ou microscópica de ovários no estágio de repouso após a desova. Na referida espécie, exemplares no final do estágio esgotado já apresentam oócitos III, fato que segundo os autores caracteriza o início de maturação. Resultado similar foi relatado em *Astyanax bimaculatus*, *A. fasciatus* e *A. schubarti* (NOMURA, 1979).

Porém, GODINHO e colaboradores (1974) registraram o estágio de repouso em *Pimelodus maculatus*. Fato também constatado por RAMAGOSA (1988) que descreveu ovários em estágio de repouso em *Piaractus mesopotamicus*. Nesse animal, os oócitos avitelogênicos ou oócitos II

são encontrados em todos os estádios de desenvolvimento gonadal. Estes resultados estão de acordo com os aqui relatados na *P. squamosissimus*, na qual a principal característica microscópica de ovários em estágio de repouso foi a grande predominância de oócitos do estoque de reserva, ou seja, oócitos previtelogênicos ou oócitos II.

A descrição microscópica de ovários no estágio de maturação gonadal também pode apresentar características divergentes entre as diferentes espécies de teleósteos. Segundo CARAMASHI e colaboradores (1982), o estágio de maturação de *H. malabaricus* se caracterizou, microscopicamente, pela presença de oócitos II e predominância de oócitos III.

Em *P. squamosissimus*, esse estágio se caracterizou pela presença de oócitos em vitelogênese lipídica (oócitos III) nos ovários em maturação inicial e de oócitos em vitelogênese lipídica e protéica (oócitos IV) e oócitos em vitelogênese completa ou oócitos maduros (oócitos V) em ovários em maturação final. Resultados similares foram descritos nos ovários em maturação em outros teleósteos (VAZZOLER, 1996; RIDEOUT *et al.*, 1999).

5.3 Testículos

As características morfológicas e anatômicas dos testículos de *P. squamosissimus* são condizentes com aquelas descritas para a maioria dos teleósteos. Dentre as quais se citam as características anatômicas como a presença de uma túnica albugínea de tecido conjuntivo que emite septos para o interior dos testículos a partir dos quais são formados os túbulos seminíferos que revestem e sustentam os cistos de células germinativas (BARBIERI & BARBIERI, 1984; AGOSTINHO *et al.*, 1987; AZEVEDO *et al.*, 1988).

Quanto à organização estrutural dos testículos de teleósteos, a ocorrência de ducto espermático que emerge dos testículos e desemboca na papila urogenital, localizada posteriormente à abertura anal de *P. squamosissimus*, também tem sido relatada em outras espécies de teleósteos (BARBIERE & BARBIERE, 1984; AZEVEDO *et al.*, 1988). Em *Gymnotus carapo*, essa estrutura é constituída de túbulos revestidos por células epiteliais e assemelha-se ao epidídimo dos mamíferos (BARBIERE & BARBIERE, 1984).

Em *P. squamosissimus* esse ducto apresenta uma região de tecido conjuntivo que é também revestida por células epiteliais. Essa estrutura desempenha a função de armazenar a grande massa de espermatozóides até o momento propício para a espermiacção. É plausível a hipótese de que a mesma também desenvolva uma função nutridora dos espermatozóides nela

armazenados. Ressalta-se que ambas as funções são exercidas pelo epidídimo dos mamíferos.

Ainda no que diz respeito à organização testicular em teleósteos, GRIER e colaboradores (1980b), analisaram os testículos de quatro grupos de teleósteos (Salmoniformes, Perciformes, Cipriniformes e Atheriniformes) e com base na distribuição das espermatogônias estabeleceram a estrutura testicular nos representantes desses grupos, como tubular, com dois tipos básicos: o primeiro tipo é o espermatogonial restrito onde as espermatogônias se encontram restritas ao término distal dos túbulos seminíferos, sendo característico dos Atheriniformes; o segundo tipo é o espermatogonial irrestrito, no qual as espermatogônias se encontram distribuídas ao longo dos túbulos seminíferos. Este tipo é comum às diferentes espécies de teleósteos (AGOSTINHO *et al.*, 1987; AZEVEDO *et al.*, 1988; GUSMÃO; 1998; NEGRÃO, *et al.*, 2002).

Em *P. squamosissimus*, os testículos estavam organizados em túbulos seminíferos ao longo dos quais estavam distribuídas as espermatogônias. Notou-se que todas as fases do processo espermatogênico ocorrem dentro de cistos que compõem os túbulos. Logo, a estrutura do testículo da espécie se enquadra no padrão espermatogonial irrestrito (GRIER *et al.*, 1980b).

Em *P. squamosissimus*, as espermatogônias foram encontradas no interior dos túbulos seminíferos ao longo de todo o ano. Esse fato leva a inferir que

as mesmas sejam fontes de reposição de células germinativas, tal como descrito por outros pesquisadores (HERDENSON, 1962; LEHRI, 1967; ANDRADE & GODINHO, 1983; BARBIERI & BARBIERI, 1984; AGOSTINHO, 1985; AZEVEDO *et al.*, 1988).

A classificação das espermatogônias em primárias e secundárias observadas durante a espermatogênese de *P. squamosissimus* é usualmente utilizada para a identificação dessas células em peixes (GRIER, 1976; SELMAN & WALLACE, 1986; BORGES, 1987; SILVA, 1987; SILVEIRA *et al.*, 1990; NAKAGHI, 1996; GUSMÃO, 1998; NEGRÃO, *et al.*, 2002). Esta classificação difere daquela utilizada para os mamíferos (DYM & CLERMONT, 1970). Nestes animais, as espermatogônias são classificadas em do tipo A, intermediárias e tipo B, que provavelmente correspondem às *stem cells*, espermatogônias primárias e espermatogônias secundárias dos peixes, respectivamente. Nas análises histológicas, em microscopia de luz, dos testículos de *P. squamosissimus*, não foi possível a visualização e/ou caracterização das *stem cells* na linhagem germinativa.

As análises histológicas das espermatogônias primárias de *P. squamosissimus* demonstraram que estas são as maiores células da linhagem germinativa, isoladas, com núcleo volumoso e único nucléolo. O citoplasma demonstrou pouca afinidade por corante, logo, pouco distinto. Características similares foram descritas em *Rhinelepis aspera*, (AGOSTINHO *et al.*, 1987).

Os aspectos histológicos das espermatogônias secundárias e dos espermatócitos em *P. squamosissimus* revelaram que as primeiras são células presentes em número variável no interior de cistos, núcleo basófilo com um ou dois nucléolos excêntricos e citoplasma escasso. Os espermatócitos também se encontravam dentro de cistos, mas apresentaram diâmetro nuclear menor que aquele observado nas espermatogônias. Quanto a esse fato, MOSER (1967) citou que o aumento de tamanho do núcleo que se verifica com a transformação da espermatogônia em espermatócito primário em outros vertebrados, comumente não ocorre em peixes. Assim sendo, a diminuição do tamanho do núcleo pode ser utilizada como importante referencial na identificação das fases de maturação das células germinativas no início da transformação em peixes. Não obstante, em consequência da técnica histológica utilizada não foi possível fazer a distinção entre espermatócitos primários e secundários em *P. squamosissimus*.

As espermátides são as primeiras células haplóides que surgem nos túbulos seminíferos e são oriundas da segunda divisão meiótica sofrida pelos espermatócitos secundários. Nos peixes, as populações iniciais dessas células estão contidas em cistos. Porém, AZEVEDO e colaboradores (1988) relataram a ocorrência de células germinativas em espermiogênese, ou seja, espermátides na luz dos túbulos seminíferos, nos testículos de *Parodon tortuosus*.

Em *P. squamosissimus* foram caracterizadas duas populações de espermátides. Uma era composta por espermátides em início de espermiogênese

e identificadas como espermatídes iniciais. A segunda população apresentou diâmetro nuclear menor, núcleo mais condensado e com maior afinidade por corante, sendo identificada como espermatídes finais. Porém, ambas as populações se encontravam no interior de cistos. Quanto a este fato, nesta espécie, constatou-se que toda a linhagem de espermatídes se limita aos cistos, logo, elas não foram localizadas na luz dos túbulos seminíferos. Outros estudos com peixes também não relataram a ocorrência de espermatídes na luz dos túbulos seminíferos (GRIER, 1976; AGOSTINHO *et al.*, 1987; Van VUREN & SOLEY, 1990; NEGRÃO, *et al.*, 2002).

Histologicamente, os espermatozóides de *P. squamosissimus* eram as menores células da população gamética. No núcleo, a cromatina se encontrava muito condensada, corando-se de forma intensa e homogênea. Essas células se localizam no lúmen dos túbulos seminíferos e naquele do ducto espermático. Nos animais com gônadas maduras, elas formavam uma grande massa celular em ambas as regiões. Estas características são comumente descritas em trabalhos realizados com peixes (AGOSTINHO *et al.*, 1987; ANDRADE E GODINHO, 1983; BARBIERI & BARBIERI, 1984; AGOSTINHO, 1985; AZEVEDO *et al.*, 1988).

Quanto à avaliação da atividade espermatogênica, em espécies como *Gymnotus carapo* essa ocorre durante o ano todo, variando apenas em intensidade, sendo maior de setembro a janeiro com picos em outubro e novembro (BARBIERE & BARBIERE, 1984).

Nos testículos de *P. squamosissimus* a atividade espermatogênica, aparentemente, não ocorreu ao longo do ano todo, visto que não foram encontrados machos com gônadas maduras em todos os meses do ano. Contudo, foram observados dois picos de espermição, sendo um registrado em julho e outro de janeiro a fevereiro. Esses picos foram similares àqueles observados nas fêmeas.

Similarmente à escala de maturidade ovariana, a utilização da escala de maturidade testicular, a nível microscópico, possibilita o acompanhamento da atividade espermatogênica ao longo de todo o ciclo reprodutivo dos peixes.

AZEVEDO e colaboradores (1988) descreveram uma escala de maturidade testicular com os estádios de maturação, maduro e esvaziado para o estabelecimento microscópico do desenvolvimento testicular em *Parodon tortuosus*. No estágio de maturação, os túbulos seminíferos eram preenchidos por cistos contendo células germinativas em diferentes estádios da espermatogênese. O estágio maduro foi caracterizado por túbulos seminíferos repletos de espermatozóides, e o estágio esvaziado apresentou como características os túbulos seminíferos desorganizados, com poucos espermatozóides residuais e cistos de células germinativas, entre os quais predominavam os cistos de espermatogônias.

BARBIERE & BARBIERE (1984) relataram que em *Gymnotus carapo* nos testículos no estágio de maturação as células nas fases finais de maturação se acumulavam no ducto espermático e que testículos nesse estágio foram encontrados durante todo o ano, com maior incidência nos meses de março a setembro. Os autores citaram que, no referido estágio, células nas fases finais de maturação se acumulavam no ducto espermático. Em testículos no estágio maduro, não foram observadas grandes quantidades de células germinativas em fase final de maturação na luz dos túbulos seminíferos, mas, essas células se acumulavam em grande quantidade nos ductos espermáticos. Quanto aos testículos em estágio de repouso, os referidos autores notaram uma diminuição da atividade espermatogênica e desorganização na constituição dos lóbulos seminíferos nos testículos em estágio esvaziado de *Gymnotus carapo*.

Em *P. squamosissimus* a escala de maturidade testicular foi caracterizada nos estádios de repouso, maturação, maduro e esvaziado. Os testículos em repouso apresentavam túbulos seminíferos com espermatogônias primárias e grande predominância de cistos de espermatogônias secundárias. Similarmente, nos testículos de *Rhinelepis aspera*, o estágio de repouso foi caracterizado pela presença de túbulos seminíferos contendo espermatogônias primárias, secundárias e células císticas (AGOSTINHO *et al.*, 1987).

Nos testículos em estágio de maturação de *P. squamosissimus*, foram notados cistos de células germinativas em todas as fases de diferenciação e

espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos. Nos testículos em estágio maduro, notou-se significativa redução dos cistos de células germinativas em diferenciação, acúmulo de espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos e grande massa de espermatozóides acumulados no ducto espermático no final do estágio.

Microscopicamente, notou-se que, nos testículos esvaziados, os cistos de células germinativas (espermatogônias, espermatócitos e espermatídes) se encontravam caracteristicamente desorganizados e em número reduzido. Não foi constatado o direcionamento de todos os espermatozóides da região do lúmen tubular para o ducto, e nem da massa de espermatozóide do ducto espermático para o meio externo (espermição). Logo foram observados espermatozóides residuais tanto na luz dos túbulos seminíferos, bem como, na luz do ducto espermático. Fato que permitiu também classificar este estágio como semi-esvaziado. Observações similares foram descritas por BARBIERI e colaboradores (1981) para testículos esgotados de *Geofhagus brasiliensis*, e por JAMES (1946) para *Huro salmoides* e *Lepomis macrochirus*.

As informações literárias têm atribuído destinos diferentes aos espermatozóides residuais em peixes. Há autores que consideram que os espermatozóides residuais permanecem saudáveis no lúmen dos túbulos seminíferos até o ciclo de maturação seguinte (HOCHMAN, 1967; POLLARD, 1972; HOFFMAN *et al.*, 1980). Porém, existem estudos indicativos de que, em testículos esgotados de peixes, os espermatozóides residuais se

acumulam juntos aos processos citoplasmáticos das células císticas dos túbulos e das células de revestimento do ducto espermático, inferindo que estas células desempenhem também função de remoção do sêmen residual (HENDERSON, 1962; De VLAMING, 1972).

Resultados similares aos da escala de maturidade testicular de *P. squamosissimus* foram também descritos em *Parodon tortuosus*, na qual os testículos em estágio de maturação foram caracterizados por túbulos seminíferos contendo cistos de células germinativas em diferentes fases de desenvolvimento. Não obstante, nos testículos em estágio maduro, os túbulos seminíferos estavam repletos de espermatozóides; enquanto que testículos esvaziados foram caracterizados pela desorganização dos túbulos seminíferos, poucos espermatozóides residuais e cistos de células germinativas, com predominância para os cistos de espermatogônias (AZEVEDO *et al.*, 1988).

A relação gonadossomática (RGS) ou índice gonadossomático (IGS) quando correlacionadas com as informações macroscópicas da distribuição das freqüências relativas dos estádios de maturação gonadal e microscópicas do desenvolvimento oocitário e dinâmica da espermatogênese, têm sido uma importante ferramenta para avaliar a maturação gonadal em peixes, ou mais especificamente os momentos de picos de desova e picos de espermição (AGOSTINHO, 1979; AGOSTINHO *et al.*, 1987; AZEVEDO *et al.*, 1988; RAMAGOSA *et al.*, 1988; Le CREN, 1951; GODINHO, 1972).

A análise de correlação entre os estádios de maturação gonadal, desenvolvimento oocitário e dinâmica da espermatogênese leva a inferir que em *P. squamosissimus* existe um relativo sincronismo na maturação gonadal entre machos e fêmeas e ambos apresentaram dois picos reprodutivos. Um pico menos intenso ou secundário registrado no mês de julho e outro mais intenso ou principal que ocorre entre os meses de janeiro e fevereiro. Os maiores valores da variação temporal da relação gonadossomática (Δ RGS) indicaram os momentos dos referidos picos. Nas fêmeas, em ambos os picos, notou-se forte correlação positiva desse índice com os dados percentuais da análise macroscópica dos estádios de maturação, bem como, com as médias de oócitos maduros. Nos machos, houve também forte correlação positiva entre os maiores valores de Δ RGS com os maiores valores percentuais do estágio maduro, assim como, com os maiores valores percentuais de espermatozóides nos túbulos seminíferos.

AGOSTINHO e colaboradores (1987) relataram que em *Rhinelepis aspera*, as maiores médias do IGS foram constatadas nos testículos em reprodução III (maduros) que apresentaram túbulos seminíferos amplos com densa massa de espermatozóides ocupando virtualmente todo o lúmen desses túbulos.

Essas informações corroboram que a avaliação e correlação entre essas variáveis (RGS, frequência dos estádios de maturação, frequência de oócitos maduros e de espermatozóides) podem ser muito úteis para a elucidação

do período reprodutivo, ou mais precisamente do momento de desova ou espermição dos peixes.

Não se têm informações sobre a quantificação espermatogênica, nem tão pouco, sobre a determinação dos estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES) em peixes. Dados sobre os assuntos são concernentes aos trabalhos realizados com mamíferos (LEBLOND & CLERMONT, 1952 a; SWIESTRA, 1968 a; ORTAVANT *et al.*, 1977; AMANN, 1970; CARDOSO & GODINHO, 1983; RUSSELL *et al.*, 1990; FRANÇA, 1991; QUEIROZ & NOGUEIRA, 1992).

A quantificação das células da linhagem espermatogênica, bem como, a determinação e estimação da duração do CES têm proporcionado informações de valor ímpar não somente para o conhecimento reprodutivo, como também, para a estimação do potencial reprodutivo de diferentes espécies de mamíferos (LEBLOND & CLERMONT, 1952a; HOCHEREAU *et al.*, 1964; SWIESTRA, 1968a; SWIESTRA *et al.*, 1974; ORTAVANT *et al.*, 1977; AMANN, 1970; CARDOSO & GODINHO, 1983; RUSSELL *et al.*, 1990; FRANÇA, 1991; QUEIROZ & NOGUEIRA, 1992).

Não obstante, algumas considerações importantes devem se explicitadas antes que qualquer tipo de analogia, de caráter reprodutivo, seja feito entre mamíferos e peixes. Primeiramente, é notório que os mamíferos, após atingirem sua maturidade sexual ou puberdade, seus testículos passam a

apresentar túbulos seminíferos compostos por associações celulares que caracterizam os estádios do CES e que essas associações, ou essas células, se estabelecem nos túbulos durante a vida reprodutiva do animal. Significa dizer que, em condições normais ou não patológicas, a produção espermática será constante e interrupta.

O segundo aspecto de grande importância é concernente ao fato de que o conjunto de células ou associações celulares que compõem ou caracterizam cada estágio do CES é sempre composto por espermatogônias, espermatócitos e espermatídes, caso a metodologia adotada seja o método de morfologia tubular (ORTAVANT *et al.*, 1977; AMANN, 1970; CARDOSO, 1981; FRANÇA, 1991). De acordo com esse método, os estádios do CES são classificados com base nas alterações da forma do núcleo das espermatídes, na ocorrência de divisões meióticas sofridas pelos espermatócitos e no arranjo ou disposição das espermatídes no epitélio seminífero. Logo, pode-se dizer que a classificação de cada estágio do CES em mamíferos é baseada, em última instância, nas fases meióticas que caracterizam cada tipo de espermatócito primário, na meiose sofrida pelos espermatócitos secundários, bem como, na morfologia nuclear e disposição das espermatídes no epitélio seminífero.

O terceiro aspecto não menos relevante e que tem forte relação com o primeiro, é o fato de que, uma vez atingida sua maturidade sexual ou puberdade, os mamíferos não passam pelo processo de regressão gonadal

resultante do esvaziamento dos túbulos seminíferos pela população de células germinativas. Quanto a estes dois fatos, os dados literários revelam que nos peixes comumente ocorre um processo de regressão testicular, após a conclusão do período reprodutivo, em decorrência do esvaziamento parcial dos cistos de células germinativas nos túbulos seminíferos no final de cada ciclo reprodutivo, mesmo nas naquelas espécies com relatos de reprodução durante todo ano, como acontece em *Gymnotus carapo*, conforme os relatos de BARBIERE & BARBIERE (1984).

No que diz respeito aos três aspectos supracitados, na quantificação da espermatogênese e determinação dos estádios do CES de *P. squamosissimus* levaram-se em consideração as peculiaridades inerentes aos peixes, tais como, maturação gonadal cíclica e atividade gonadal caracterizada em estádios de maturidade.

A quantificação da espermatogênese em *P. squamosissimus* demonstrou que a predominância de determinado tipo celular está diretamente relacionada com o estágio de maturidade gonadal do animal. Este fato pôde ser corroborado, por exemplo, no momento em que o animal se encontrava no intervalo entre um período reprodutivo e outro (estádio de repouso da maturidade gonadal), quantitativamente foi o instante em que as espermatogônias secundárias atingiram a maior média por cisto ($35,03 \pm 6,44$). Quanto à análise

histológica do CES, este período caracteriza o estágio 1, com ocorrência somente de espermatogônias primárias, cistos de espermatogônias secundárias e células de Sertoli compondo os túbulos seminíferos.

A análise quantitativa da espermatogênese de *P. squamosissimus* em maturação gonadal demonstrou que este estágio era marcado pelo aumento da população espermatogênica, sendo registradas as maiores médias celulares por túbulo seminífero, com $43,31 \pm 11,32$ espermatogônias secundárias; $100,58 \pm 32,15$ espermatócitos; e com $360,91 \pm 88,86$ espermátides por túbulo seminífero. Essas foram as maiores médias dessas células, registradas no ciclo reprodutivo. Este fato parece ser mais uma importante peculiaridade do comportamento reprodutivo dos peixes, visto que nos mamíferos, as maiores médias resultantes da quantificação da espermatogênese são obtidas após esses animais terem alcançado sua plena maturidade sexual. Os estágios 2, 3, 4 e 5 do CES foram observados nos testículos em maturação.

Em *P. squamosissimus* com gônadas maduras, a quantificação da espermatogênese revelou que houve diminuição do número de cistos de espermatogônias secundárias, espermatócitos e espermátides com a conseqüente redução das médias dessas células nos túbulos seminíferos. Essa redução era acompanhada pelo considerável aumento do valor percentual de espermatozóides por túbulo seminífero. Os estágios 6 e 7 do CES foram observados em gônadas maduras.

A alternativa proposta neste trabalho e que visa, ao menos, a manutenção dos estoques de pescada em condições razoáveis de exploração, na região em estudo, seria a diminuição do esforço de pesca nos meses de julho, janeiro e fevereiro, nos quais a espécie demonstra se encontrar em plena desova na região estudada.

CONCLUSÕES

De acordo com as informações obtidas concernentes à avaliação da atividade gonadal de machos e fêmeas de *P. squamosissimus* capturados no rio Pará (PA), bem como, às informações obtidas sobre a pesca da referida espécie na região em estudo, pode-se concluir que:

- Pelo menos na área em estudo, a *P. squamosissimus* se caracteriza como uma espécie que apresenta desova parcelada;

- De acordo com as informações obtidas com os pescadores da região sul/sudeste da Ilha do Capim (PA), nos últimos quinze anos, parece ter ocorrido redução qualiquantitativa nos estoques de *P. squamosissimus*, no rio Pará. Porém, estudos adicionais podem e devem ser desenvolvidos, na região, a fim de se corroborar essas informações, bem como, somar dados sobre essa problemática, com o intuito de, pelo menos, buscar alternativas para a manutenção dos estoques de *P. squamosissimus* no rio Pará;

- No rio Pará, a espécie demonstra apresentar dois picos de desova, sendo um pico de menor intensidade ou secundário registrado no mês de julho e um pico de maior intensidade ou principal que ocorre entre os meses de dezembro e janeiro;

- As informações obtidas da análise da variação temporal da relação gonadossomática (ΔRGS) também indicam os meses de julho, dezembro e janeiro com ocorrência de desovas. Não obstante, há forte correlação positiva entre essa variável com os dados macroscópicos e microscópicos da análise gonadal de machos e fêmeas, bem como,

com as informações quali quantitativas das células germinativas. Tais fatos corroboram a ocorrência de desova nos respectivos meses supracitados;

➤ Conforme a morfologia dos túbulos seminíferos, o CES na espécie é caracterizado em oito estádios. Estádio 1 com túbulos seminíferos contendo espermatogônias primárias e secundárias; no estágio 2 são encontradas espermatogônias primárias, secundárias e espermatócitos; no estágio 3 encontram-se espermatogônias primárias, secundárias, espermatócitos e espermatídes jovens; o estágio 4 caracterizado por espermatogônias primárias, secundárias, espermatócitos, espermatídes jovens e tardias; estágio 5 com todas as células anteriores e espermatozóides no lúmen tubular; no estágio 6 há diminuição dos cistos de células germinativas e significativo aumento do número de espermatozóides; túbulo no estágio 7 possui poucos cistos de células germinativas e se inicia o esvaziamento da massa de espermatozóides do lúmen; no estágio 8 nota-se a desorganização dos cistos de células gaméticas no túbulo seminífero e o completo esvaziamento da massa de espermatozóides do lúmen tubular;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERCROMBIE, M. *Estimation of nuclear population from microtome sections*. Anat. Rec., v.94, p.238-248, 1946.

AGOSTINHO, A.A. *Reprodução em fêmeas Plecostomus comersonii (Valenciennes, 1840) (Osteichthyes, Loricariidae) e suas relações*. 1979, 76p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

AGOSTINHO, A.A. *Estrutura de população idade de crescimento e reprodução de Rhinelepis aspera (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricariidae) do rio Paranapanema, PR*, Rev. Bras. Biol., v.9, p.44-51, 1985.

AGOSTINHO, A.A., BARBIERI, M.C., AGOSTINHO, C.S., BARBIERI, G. *Biologia reprodutiva de Rhinelepis aspera (Agassiz, 1829) (Teleostei, Loricariidae) no rio Paranapanema. I. Estrutura dos testículos e escala de maturidade*. Rev. Bras. Biol., v. 47, p.309-17, 1987.

AGOSTINHO, A.A., BARBIERI, G., VERANI, J.R., AGOSTINHO, C.A. *Ciclo reprodutivo e primeira maturação de Rhinelepis aspera (Agassiz, 1829) (Teleostei, Loricariidae) no rio Paranapanema*. Rev. UNIMAR, Maringá. v. 8, p.17-27, 1986.

AIRES, E. D. *Características morfológicas e histofisiológicas da via espermática da Piracanjuba, Brycon orbignyanus (Pisces, Teleostei)*. 1998. 69p. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

AYRES, M.; AYRES Jr., M; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. *Bioestat 3.0. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas*. 3. ed. Belém, Sociedade Civil Mamirauá/ Brasília CNPq, 2003. 290p.

ALMEIDA-PEREZ, P. *Estudio preliminar de la histocitologia de los ovarios de la corvina Cynoscion maracaibaensis, Schultz, del lago de Maracaibo (Venezuela). (Perciformes, Sciaenidae)*. Mem. Soc. Cient. Natur. "La Salle", v. 32, p. 20-46, 1972.

AMANN, R.P. *Sperm production rates*. In: JOHSON, A.D.; GOMES, W.R.; VAN DEMARK, N.L.(ed). *The Testis*. New York: Academic Press, v. 1, p. 433-482, 1970.

ANDRADE, D.R. *Variação cíclica anual da espermatogênese em Leporinus silvestrii (Boulenger, 1902). Peixe teleósteo*. 1980. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ANDRADE, D.R., GODINHO, H.P. *Annual male reproductive cycle of the brazilian teleost fish Leporinus silvestrii (Boulenger, 1902)*. Arch. Biol., v.94, p.1-14, 1983.

ANDRADE & YASUI, *Manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil*. Rev. Bras. Reprod. Anim., v. 27, p. 166-172, 2003.

AZEVEDO, C.O., BARBIERI, M.C., BARBIERI, G. *Ciclo reprodutivo de Parodon tortuosus (Eigenmann and Norris, 1900) do rio Passa Cinco, Ipeúna, SP. I. Estádios de maturação dos testículos. Época de reprodução*. Rev. Bras. Biol., v.48, p.565-9, 1988.

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)*. Rev. Bras. Biol., v. 44, p. 141-8, 1984.

BARBIERI, M.C., BARBIERI, G., MARINS, M.A. *Sobre a anatomia e histologia do testículo de Geophagus brasiliensis (QUOY e GAIMARD, 1824) na represa do Lobo, SP*. Rev. Bras. Biol. v. 41, p. 169-73, 1981.

BARTHEM, R.B. *Ocorrência, distribuição e biologia dos peixes da Baía de Marajó. Estuário Amazônico*. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Zoológica, v. 2(1), p. 49-69, 1985.

BARTHEM, R.B. *Componente Biota Aquática*. In:__. *Biodiversidade Amazônica: Consulta 99. Avaliação e Identificação de Ações Prioritárias para a Conservação, Utilização Sustentável e Repartição dos Benefícios da Amazônia Brasileira*. Macapá (AP). PRONABIO, ISA, AMAZON, IPAM, GTA, CI, ISPN. 1999, 28P.

BARTHEM, R.B. *O desembarque na Região de Belém e a pesca na Foz Amazônica Brasileira*. In:__. *Rufino, M.L., A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira*. Manaus: IBAMA/ProVárzea. P. 153-183, 2004.

BARTHEM, R.B. & PETRERE, Jr. M. 1995. Fisheries and population dynamics of *Brachyplatystoma vaillantii* (Pimelodidae) in the Amazon Estuary. Pages 329-340 in N.B. Armantrout, editor. Condition of the world's aquatic habitat. *Proceeding of*

the World Fisheries Congress, Theme 1. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt., New Delhi. 411p.

BEACH, A.W., *Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the gold fish.* Can. J. Zool., v. 37, p. 615-625, 1959.

BERNDTSON, W.E. *Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review.* J. Anim. Sci., v. 44, p. 818-833, 1977.

BHATTI, M.Z. & AL-DAHAM, N.K. *Annual cyclical changes in testicular activity of a freshwater teleost, Barbus luteus (heckell) from Shatt-Al-Arab, Iraq.* J. Fish. Biol., v. 13, p. 321-325, 1978.

BHATTI, M.Z. & JAVAID, M.Y. *Annual cyclical changes in the ovarian activity of a fresh water teleost, Colisa fasciata.* Fish. Bull., v. 3, p. 1-33, 1973.

BILLARD, R. *Spermatogenesis and spermatology of some teleosts fish species.* Reprod. Nutr. Dev., v.26, p.877-920, 1986.

BILLARD, R. *Spermatogenesis in teleost fish.* In: LAMMING, G.E. (Ed.) *Marshall's Physiology of Reproduction. Reproduction in Males.* Edinburgh: Churchill Livingstone, v.2, p.183-202. 1990.

BORGES, O.F.F. *Caracterização dos estádios de maturação e correlação com avaliações histoquímico-enzimáticas e ultra-estruturais das células endócrinas*

durante o ciclo reprodutivo do *Prochilodus scrofa* (Steindachenei, 1881). 1987. 234p. Tese (Doutorado)- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BRAEKEVELT, C.R.; McMILLAN, D.B. *Cyclic changes in the ovary of the brook stickleback Eucalia inconstans* (Kirstland). J. Morph., v. 123, p. 373-396, 1967.

CAMARGO, M.; ISSAC, V. *Variação espaço-temporal da abundância relativa da ictiofauna no estuário do rio Caeté, Bragança, Pará, com referência à família Scianidae*. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Zoológica, v. 17(2), p. 119-132, 2001a.

CAMARGO, M.; ISSAC, V. *Os peixes estuarinos da região Norte do Brasil: lista de espécies e considerações sobre sua distribuição geográfica*. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Zoológica, v. 17(2), p. 133-157, 2001b.

CARAMASCHI, E.P.; GODINHO, H.M.; FORESTI, F. *Reprodução de Hoplias malabaricus (BLOCH, 1794) (TELEOSTEI, ERYTHRINIDAE) na represa do rio Pardo (Botucatu, SP). I. Histologia e escala de maturação do ovário*. Rev. Brasil. Biol, v. 43, p. 635-640, 1982.

CARDOSO, F.M. *Morfologia, cinética e quantificação da espermatogênese em zebus (Bos indicus)*. 1981. 203p. Tese (Doutorado em Morfologia)- Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CARDOSO, F.M.; GODINHO. H.P. *Cycle of seminiferous epithelium and its duration in the zabu, Bos indicus*. Anim. Reprod. Sci., v. 5, p. 231-245, 1983.

CARNELÓS, R.C.; BENEDITO-CECÍLIO, E. Reproductive strategies of *Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840 (Osteichthyes Scianidae) in the Itaipu Reservoir, Brazil. Braz. Arch. of Biol. and Techn, v. 45 (3), p. 317-324, 2002.

CASTRO, A.C.L. *Ictiofauna do reservatório de Barra Bonita, SP: aspectos ecológicos da comunidade e dinâmica populacional da corvina, Plagioscion squamosissimus (HECKEL, 1840) (Acanthopterygii, Sciaenidae)*. 1994. 178p. Tese (Doutorado) EESC/USP, São Carlos.

CASTRO, A.C.L. *Tamanho e idade de primeira maturação da corvina, Plagioscion squamosissimus (HECKEL, 1840) (TELEOSTEI, SCIAENIDAE) do reservatório de Barra Bonita, SP*. Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, ser. Zool., v. 15, p. 119-133, 1999.

CASTRO, A.C.S.; BERNDTSON W.E; CARDOSO F.M. *Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e sua aplicação em estudos da reprodução de mamíferos*. Rev. Bras. Reprod. Anim., v. 21, n.1, p.25-34, 1997.

CAVALCANTI, C. *Desenvolvimento e natureza: estudos para uma sociedade sustentável*. São Paulo. Cortez; Recife, PE: Fundação Joaquim Nabuco. 1995. 429p.

CHAVES, P.T.C., VAZZOLER, A.E.A.M. *Aspectos biológicos de peixes amazônicos. II. Anatomia microscópica de ovários, escala de maturidade e tipo de desova das espécies do gênero Semaprochilodus*. Rev. Bras. Biol., v.44, p.347-59, 1984.

CLERMONT, Y. *Differenciation et evolution des cellules sexuelles: cinétique de la spermatogenèse chez les mammifères*. Arch Anat. Microsc., v. 56, p. 7-60, 1967.

CLERMONT, Y. *Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal*. Physiol. Rev., v. 52, p. 198-236, 1972.

CRUZ-LANDIM, C., CRUZ-HOFLING, M.A. *Aspectos da espermatogênese de tucunaré Cichla ocellaris Schneider, 1801 (Teleostei, Cichlidae)*. Acta Amazon., v.16/17, p. 65-72, 1986/1987.

CRUZ, J.A. MOREIRA, J.A.; VERANI, J.R.; GIRARD, L.; TORLONI, C.E.C. *Levantamento da ictiofauna e aspectos da dinâmica de população de algumas espécies do reservatório de Promissão, SP*. CESP/UFSCAR (Série pesquisa e Desenvolvimento, 52), 78p, 1990.

DA MATA, M.R. Jr.; LAZZARO, X. *Sazonalidade da reprodução e tamanho na primeira maturação dos peixes em cinco açudes do semi-árido de Pernambuco*. In:___ Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca. Guarapiri-ES. Anais, p. 649-653, 1997.

DANERI, C.A. *Contribución al conocimiento del ciclo sexual de la corvina blanca Micropogon opercularis. (Quoy y Gaimard)*. Boln. Mus. Argent. Cient. Nat., v. 14, p. 1-24, 1957.

De VLAMING, V.L. *Reproductive cycling in the estuarine gobiid fish, Gillichthys mirabilis*. COPEIA, nº 2, p. 278-91, 1972.

DYM, M.; CLERMONT, Y. *Role of spermatogonia in the repair of the seminiferous epithelium following x-irradiation of the rat testis*. Am. J. Anat., v. 128, p. 265-282, 1970.

FRANÇA, L.R. *Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau*. 1991. 185p. Tese (Doutorado em Morfologia)- Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome: FAO, 2002. 148p.

FOWLER, H. W. *Os peixes de água doce do Brasil*. Archos. Zool. Est. S. Paulo; v. 6, p. 362-4, 1950.

GODINHO, H.M. *Contribuição ao estudo do ciclo reprodutivo de Pimelodus maculatus (Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei) associado à variações morfológicas do ovário e fatores abióticos*. 1972. 94p. Tese (Doutorado).

Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GODINHO, H.M.; FERRI, S.; MEDEIROS, L.O.; BARKER, J.M.B. *Morphological changes in the ovary of Pimelodus maculatus Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei) related to the reproductive cycle*. Rev. Brasil. Biol. v. 34, p. 581-588, 1974.

GONÇALVES, G.T. *Aqüicultura, meio ambiente e legislação*. 2002. Annablume Ed. Comunicação. Disponível em <http://www.annablume.com.br>.

GRIER, H.J. Spermogenesis in the teleost *Gambusia affinis* with particular reference to the role played by microtubules. *Cell Tissue Res.*, v. 165, p. 89-102, 1975a.

GRIER, H.J. *Aspects of germinal cyst and sperm development in Poecilia latipinna (Teleostei, Poeciliidae)*. J. Morphol., v. 146, p. 229-50, 1975b.

GRIER, H.J. *Sperm development in the teleost Oryzias latipes*. Cell Tissue Res., v. 168, p. 419-31, 1976.

GRIER, H.J. *Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes*. Am. Zool., v. 21, p. 345-57, 1981.

GUSMÃO, P. *Aspectos histológicos e ultra-estruturais da espermatogênese em Plagioscion squamosissimus (Teleostei, Perciformes, Sciaenidae)*. 1998. 79p.

Dissertação (Mestrado em Zoologia), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.

HAFEZ, E.S.E. *Reprodução Animal*. 4ed. São Paulo; Manole, 1982. 720p.

HAIMOVICI, M. *Idade, crescimento e aspectos gerais da biologia da corvina *Micropogon opercularis* (Quoy e Gaimard, 2824) (Pisces, Sciaenidae)*. Atlântica, R. Grande, v. 2, p. 21-49, 1977.

HERDERSON, N.E. *The annual cycle in the testis of the eastern brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill)*. Can. J. Zool., v. 40, p. 631-41, 1962.

HOCHEREAU, M.T.; COUROT, M.; ORTAVANT, R. *Marquage des cellules germinales du bélier et du taureau par injection de thymidine tritiée dans l'arlère spermatique*. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., v. 4, p. 157-161, 1964.

HOCHMAN, L. *Fertility in the sheat fish, *Silurus glanis* L.* Act. Univers. Agricult., v. 15, p. 333-335, 1967.

HOFFMAN, R.A.; WONDRAJ, P.; GROTH, H. *Seazonal anatomical variations in the testes of European pike, *Esox lucius**. J. Fsh. Biol. v. 16, p. 475-482, 1980.

ISAAC, V.J. & RUFFINO, M. *Population dynamics of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), in the Lower Amazon, Brazil*. Fisheries Management. v. 3, p. 315-333. 1996.

JAMES, M.J. *Histology and gonadal changes in the bluegill *Lepomis macrochirus* and the largemouth bass *Huro salmoides**. J. Morph., v. 79, p. 63-91, 1946.

LASSO-ALCALÁ, O. M.; LASSO-ALCALÁ, C.A.; SEÑARIS, J.C. *Aspectos de la biología y ecología de la curvinata *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (PISCES, SCIAENIDAE), en los llamos inundables del estado Apure, Venezuela*. Soc. Ciec. Nat. Salle Tomo, v. 58, p. 2-33, 1998.

LEBLOND, C.P.; CLERMONT, Y. *Definition of the stages of the cycle seminiferous epitelium in the rat*. Ann. N.Y. Acad. Sci., v. 55, p. 548-584, 1952a.

LE CREN, E.D. *The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatis*)*. J. Anim. Ecol., v. 20, p. 201-219, 1951.

LEITÃO, W.M. *O pescador: um estudo sobre o pescador e as políticas de desenvolvimento da pesca no Brasil*. 1997. 160p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Pará, Belém.

LEHRI, G.K., *The annual cycle in the testis of the catfish *Clarias batrachus* L*: Acta. Anat., v. 67, p. 135-154, 1967.

LIMA, R.V.A., BERNARDINO, G., VALL-SELLA, M.V., FAVA-DE-MORAES, F., SCHEMY, R.A., BORELLA, M.I. *Tecido germinativo ovariano e ciclo reprodutivo de pacus (*Piaractus mesopotamicus* - Holmberg, 1887) mantidos em cativeiro*. Bol. Tec. CEPTA, v.4, p.1-46, 1991.

LINHARES, E.K. *Recursos Naturais e Meio Ambiente. In_ Fauna Ictiológica do Brasil*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2003.

LOWE-McCONNELL, R.H. *The Sciaenidae fishes of British Guiana*. Bull. Mar. Sci., v. 16, p. 20-57, 1966.

LOUBENS, G. *Biologie de Plagioscion squamosissimus (Teleostei, Scianidae) dans le bassin du Mamore (Amazonie bolivienne)*. Ichthyol. Explor. of Freshwaters. v. 14 (4), p. 369-383, 2003.

MOSER, H.G. *Seasonal histological changes in the gonads of Sebastodes paucispinis. Ayers an ovoviviparous teleost (Scorpaenidae)*. J. Morphol., v. 123, p. 320-353, 1967.

MATOS, E., AZEVEDO, C. *Estudo ultra-estrutural da espermatogênese de Lepidosiren paradoxa (Pisces) na Amazônia*. Rev. Bras. Cienc. Morfol., v.6, p.67-71, 1989.

MATOS, E., MATOS, P., OLIVEIRA, E., AZEVEDO, C. *Ultra-estrutura da espermatogênese do tamboatá, Hoplosternum littorale (Teleostei, Callichthyidae) do rio Amazonas*. Rev. Bras. Zool., v.10, p.219-27, 1993.

NAKAGHI, L.S.O. *Estudos estruturais e ultra-estruturais das gônadas do peixe híbrido tambacu*. 1996. 108p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

NASCIMENTO, E.P. *Aspectos da biologia populacional da pescada do Piauí, Plagioscion squamosissimus (HECKEL, 1840) (Pisces, Sciaenidae) e da pirambela, Serrasalmus spilopleura (KNERR, 1859) (Pisces, Characidae) da represa de Barra Bonita, SP, 1992, 132p. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.*

NEGRÃO, J.N.C. *Aspectos Ultra-estruturais da Espermatogênese da Traíra, Hoplias malabaricus (Pisces, Erythrinidae), 1999. 45p. Dissertação (Mestrado em Zoologia). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.*

NEGRÃO, J.N.C, CARVALHO, E.D., FORESTI, F., QUAGIO-GRASSIOTTO, I. *Spermatogonia and spermatocyte ustrastructure in Hoplias malabaricus (Teleostei, Characiformes, Erythrinidae). J. Zoology, v.257, p. 287-93, 2002.*

NELSON, J.S. *Fishes of the world. 1984. 523p. 2ed.; J. wiley & Sons, New York.*

NOMURA, H. *Caracteres merísticos e dados biológicos sobre o canivete, Parodont tortuosus (Eigenmann & Norris, 1900) do Rio Mogi Guaçu, São Paulo (Osteichthyes, Parodontidae). Rev. Brasil. Biol., v. 39, p. 451-456, 1979.*

ORTAVANT, R.; COUROT, M.; HOCHEREAU DE REVIERS, M.T. *Spermatogenesis in domestic animals. In: COLE, H.H.; CUPPS, P.T (Ed). Reproduction in domestic animals. New York: Academic Press, p. 203-227, 1977.*

POLLARD, D.A. *The biology of a landlocked form of the normally catadromous salmoniform fish Galaxias maculatus (Jenyns), III. Structure of the gonads.* Austr. J. Mar. Freshwater. Res., v. 23, p. 17-38, 1972.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I., NEGRÃO, J.N.C., CARVALHO, E.D., FORESTI, F. *Ultrastructure of spermatogenic cells and spermatozoa in Hoplias malabaricus (Teleostei, Characiformes, Erythrinidae).* J. Fish Biology, v. 59, p. 1496-1502, 2001.

QUEIROZ, G.F.; NOGUEIRA, J.C. *Duration of the cycle of the seminiferous epithelium and quantitative histology of the testis of the South American white-bellied opossum (Didelphis albiventris), Marsupialia.* Reprod. Fertil. Dev., v. 4, p. 213-222, 1992.

RAMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H.M.; STORFER, E.B. *Desenvolvimento dos ovócitos de Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887) (= Colossoma mitrei Berg, 1895) em condições de cultivo intensivo.* Cien. e Cult. v. 40, p. 60-4. 1988.

RASQUIN, P. & HAFTER, E., *Age changes in the testis of teleost, Astyanax mexicanus.* J. Morph., v. 9, nº 3, p. 397-407, 1951.

RASTOGI, R.K., *Annual changes in the testicular activity of the teleost Amphipnous cuchia (Ham).* Annot Zool. Jpn., v. 41, nº 1, p. 11-23, 1968.

RIDEOUT, R.M.; MADDOCK, D.M.; BURTON, P.M. *Oogenesis and the spawning pattern in Greenland halibut from the North-west Atlantic*. J. Fish. Biol., v. 54, p. 196-207, 1999.

RODRIGUES, A.M.; RODRIGUES, J.D.; MORAES, M.N.; FERREIRA, A.E. *Aspectos da estrutura populacional da pescada do Piauí, *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (Osteichthyes, Sicaenidae) na represa de Bariri, rio Tietê, São Paulo*. Bol. Isnt. Pesca. v. 15, p. 155-167, 1988.

RUFINO, M. L. & ISSAAC, V. J. *Ciclo de vida e parâmetros biológicos de algumas espécies de peixes da Amazônia brasileira*. In Recursos pesqueiros do Médio Amazonas: biologia e estatística pesqueira. Coleção meio ambiente. Série Estudos Pesca, v. 22. Brasília: Edições IBAMA. p12-30. 2000.

RUSSEL, L.D.; ETTLIN, R.A.; SINHAHIKIM, A.P. *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Clearwater: Cache River Press, p. 41-58, 1990.

SANTOS, G.M. FERREIRA, E. J.G.; ZUANON, J.A.S. *Peixes comerciais de Manaus- Manaus: Ibama/AM, ProVárzea, 2006. 144p.*

SAINT-PAUL, U.; ZUANON, J.; CORREA, M.A.V.; GARCIA, M.; FABRÉ, N.N.; BERGER, U.; JUNK, W.J. *Fish communities in central Amazonian white- and blackwater floodplains*. Environm. Biology of Fishes, v. 57, p. 235-250, 2000.

SANYO TECNO MARINE. *Draft final report for the fishery resources study of the Amazon and Tocantins rivers mouth areas in the Federative Republic of Brazil*, 1998. 334p.

SELMAN, K., WALLACE, R.A. *Gametogenesis in Fundulus heteroclicus*. Am. Zool., v. 26, p. 173-192, 1986.

SILVA, M. *Morfologia ultra-estrtutural do testículo, cinética da espermatogênese e barreira hemo-testicular da tilápia do Nilo, Oreochromis niloticus (Peixe, Ciclídeo)*. 1987. 164p. Tese (Doutorado em Morfologia). Departamento de Morfologia. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

SILVEIRA, H. RODRIGUES, P. AZEVEDO. C. *Fine structure of the spermatogenesis of Blennius pholis (Pisces, Blenniidae)*. J. Submicrosc. Cytol. Pathol., v. 22, p. 103-109, 1990.

SOARES, L.H. *Revisão taxonômica dos scianídeos de água doce da região amazônica brasileira (Osteichthyes, Perciformes, Sciaenidae)*. Masters Thesis PPG-BTRN, IMPA, Manaus, AM, Brazil, 1978.

SOARES, L.H.; CASATTI, L. *Descrição de duas novas espécies de Sciaenidae (Perciformes) de água doce da bacia amazônica*. Ac. Amaz. v. 30, p. 499-514. 2000.

SWIERSTRA, E.E. *Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelion of the boar; duration of spermatozoa transit through the epididymis.* Anat. Rec., v. 161, p. 171-186, 1968a.

SWIERSTRA, E.E.; GEBAUER, M.R.; PICKETT, B. *Reproductive physiology of the stallion I. Spermatogenesis and composition.* J. Reprod. Fertil., v. 40, p. 113-123, 1974.

VAL, A.L. & ALMEIDA-VAL, V.M.F. *Fishes of the Amazon and their environment: Physiological and biochemical aspects.* Springer-Verlag. Berlin. 1995.

VAL, A.L. & HONCZARYK, A. *Criando peixes na Amazônia, Manaus.* INPA, 1995. 160p.

VALENTIM, M. de F.M. *Biologia reprodutivas das fêmeas da pescada de água doce *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) antes e durante a formação do reservatório do AHE Serra da Mesa, no alto rio Tocantins, GO.* 1998. 142p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Biologia Animal. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

VAN VUREN, J.H.J.; SOLEY, J.T. *Some ultrastructural observations of Leydig and cells Sertoli in the testis of *Tilapia rendalli* following induced testicular recrudescence.* J. Morph., v. 63, p. 206-257, 1990.

VAZZOLER, A.E.A. de M.; AMADIO, S.A.; CARACIOLO-MALTA, M.C. *Aspectos biológicos de peixes amazônicos. XI. Reprodução das espécies do gênero Semaprochilodus (Characiformes, Prochilodontidae) no baixo Rio Negro, Amazonas, Brasil.* Rev. Bras. Biol., v. 49, nº 1, p. 165-73, 1989.

VAZZOLER, A.E.A. de M. & MENESES, N.A. *Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysii).* Rev. Bras. Biol., v. 52, nº 4, p. 627-40, 1992.

VAZZOLER, A.E.A. de M. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teórica e prática.* Maringá/PR, EDUEM; São Paulo: SBI, 1996, 169p.

VERÍSSIMO, J. *A pesca na Amazônia.* Rio de Janeiro: Livraria Clássica Francisco Alves. 1895.

WALLACE, R.A.; SELMAN, K. *Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts.* Amer. Zool., v. 21, p. 325-343, 1981.

WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucos interaction.* 3th ed. Cambridge, Cambridge University Press, 1992.

ZANIBONI FILHO, E., REZENDE, E.K. *Anatomia das gônadas, escala de maturidade e tipo de desova de Brycon cephalus (Gunther, 1869) (Teleostei: Characidae).* Rev. Bras. Biol., v. 48, p.833-44, 1988.