

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
ENGENHARIA DE PESCA

CESAR SARY

Desenvolvimento ovocitário e testicular de *Rhamdia voulezi* e *Steindachneridion melanoderdatum*, espécies endêmicas do rio Iguaçu, Paraná-Brasil

Toledo

2014

CESAR SARY

Desenvolvimento ovocitário e testicular de *Rhamdia voulezi* e *Steindachneridion melanoderdatum*, espécies endêmicas do rio Iguaçu, Paraná-Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Aldi Feiden
Co-orientador: Luis Fernando Fávaro

Toledo
2014

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.

Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

Sary, Cesar

S251d Desenvolvimento ovocitário e testicular de *Rhamdia voulezi* e
Steindachneridion melonodermatum, espécies endêmicas do rio Iguaçu,
Paraná-Brasil / Cesar Sary. -- Toledo, PR : [s. n.], 2014.
80 f. : il. (algumas color.)

Orientador: Prof. Dr. Aldi Feiden

Coorientador: Prof. Dr. Luis Fernando Fávaro

Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de
Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo.
Centro de Engenharias e Ciências Exatas.

1. Jundiá (*Rhamdia voulezi*) – Reprodução 2. Surubim
(*Steindachneridion melonodermatum*) - Reprodução 3. Reprodução
animal – Peixes 4. Peixes de água doce - Reprodução I. Feiden, Aldi,
Orient II. Fávaro, Luis Fernando, Orient. III. T

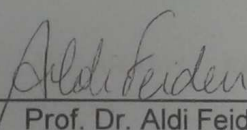
CDD 20. ed. 639.31

CESAR SARY

"Desenvolvimento ovocitário e testicular de *Rhamdia voulezi* e *Steindachneridion melanodermatum*, espécies endêmicas do rio Iguaçu, Paraná-Brasil".

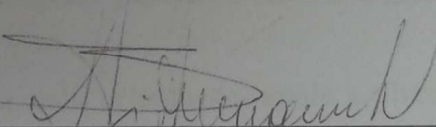
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Examinadora composta pelos membros:

COMISSÃO EXAMINADORA



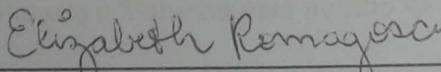
Prof. Dr. Aldi Feiden

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)



Prof. Dr. Fábio Bittencourt

Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Profª Drª Elizabeth Romagoza

Instituto de Pesca

Aprovada em: 13 de fevereiro de 2014.

Local de defesa: Sala de Treinamento do GEMAq - UNIOESTE campus de Toledo .

AGRADECIMENTO(S)

Nesta página muito especial deste trabalho, gostaria de agradecer a algumas pessoas, dentre as muitas que me ajudaram a realizá-lo.

Agradeço primeiramente a Deus;

Aos meus pais, Paulo e Maria Sary pelo apoio, força, conselhos e abraços nos momentos difíceis que proporcionam conforto e renovam as energias para seguir em frente;

Aos meus irmãos, Gilmar e Osmar Sary pelo apoio, força, conselhos e amizade;

A Vanessa pela companhia, conselhos, abraços, carinho e pelos bons momentos. Também pela paciência e compreensão;

Aos demais familiares pelos votos de sucesso;

Aos amigos que nos momentos felizes e tristes estavam presentes, compartilho nesse momento a minha felicidade;

Aos amigos do Grupo de Estudos de Manejo em Aquicultura que direto ou indiretamente contribuíram para execução desse trabalho, pela amizade, companheirismo e paciência;

Ao ‘cantinho do conhecimento’ e ao Dr. Dacley Neu pela amizade, companheirismo e paciência;

Ao professor Dr. Fábio Bittencourt pelos conselhos, orientação, amizade, companheirismo e paciência;

Aos professores Wilson Rogério Boscolo e Altevir Signor pelos conselhos, orientação e ensinamentos;

Ao professor Aldi Feiden pela orientação, apoio e direcionamentos que permitiram a execução desse trabalho;

Ao co-orientador Luis Fernando Fávaro pela orientação, ensinamentos, conselhos e oportunidade de realizar parte das análises em seu laboratório. Agradeço aos seus orientados, Diego, Burda, Jeferson e Vanessa pelo auxílio nas análises;

Agradeço a Universidade Estadual do Paraná e ao Grupo de Estudos de Manejo em Aquicultura pela estrutura para execução do trabalho.

A TODOS, OBRIGADO.

Desenvolvimento ovocitário e testicular de *Rhamdia voulezi* e *Steindachneridion melanoderdatum*, espécies endêmicas do rio Iguaçu, Paraná-Brasil

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar o desenvolvimento ovocitário e testicular de duas espécies, *Rhamdia voulezi* e *Steindachneridion melanoderdatum*. Para *R. voulezi*, 500 peixes com quatro meses e peso médio de 11,70g foram estocados em tanque-rede (TR) e coletados mensalmente, para *S. melanoderdatum*, 170 peixes com quatro anos e peso médio de 799,06g foram distribuídos em dois sistemas de cultivo, viveiro escavado de terra (VE) e TR, e bimestralmente coletados. Os animais coletados foram eutanasiados, pesados, medidos e as gônadas avaliadas macro e microscópicamente. Foram calculados os índices gonadosomático (IGS), hepatossomático, gordura celomática e fator de condição ΔK . As gônadas fixadas em solução de Bouin foram desidratadas, diafanizadas e emblocadas em paraplast. Os cortes de 5 μ m, corados pela técnica HE. Em ambas as espécies as gônadas são estruturas pares, localizadas dorsalmente na região da cavidade abdominal e fundidas na extremidade posterior formando o oviduto e ducto espermático. Em *R. voulezi* o desenvolvimento ovariano foi classificado nas fases imaturo, desenvolvimento (inicial, intermediária e final), apto a desova e regressão e desenvolvimento testicular nas fases imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma e regeneração, com fêmeas em fase apta a desova nos meses de dezembro a março, período com os maiores valores do IGS e ΔK . Para *S. melanoderdatum*, fêmeas e machos coletados em VE apresentaram os maiores valores de peso e comprimento total médio no período de coleta ($p < 0,05$), no entanto não foi verificada diferença macro e microscópica nos ovários e testículos dos animais mantidos em VE ou TR, sendo determinadas quatro fases de desenvolvimento gonadal (imaturo, desenvolvimento, apto a desova/liberar esperma e regeneração). Fêmeas e machos de *S. melanoderdatum* aptos à desova foram coletados nos meses de outubro e dezembro, período com os maiores valores do IGS e ΔK . Em testículos de *S. melanoderdatum* evidenciou-se a presença de folículos ovarianos em crescimento primário.

Palavras-chave: Ovários, testículos, fator de condição, IGS, reprodução.

Oocyte and testicular development of *Rhamdia voulezi* and *Steindachneridion melanoderdatum*, endemic species of Iguaçu River, Parana-Brazil

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the oocyte and testicular development of two species *Rhamdia voulezi* and *Steindachneridion melanoderdatum*. For *R. voulezi*, 500 fish with four months old and average weight of 11.70 g were stocked in cages (TR) and collected monthly, for *S. melanoderdatum*, 170 fish with four years old and average weight of 799.06 g were distributed into two cropping systems, pond (VE) and TR, and collected bimonthly. The collected animals were euthanized, weighed, measured and gonads evaluated macro and microscopically. We calculated the gonadosomatic (GSI) and hepatosomatic index, abdominal fat and condition factor ΔK . The gonads fixed in Bouin solution were dehydrated, diaphanized and embedded in paraplast. The sections of 5 μ m, stained by technique HE. In both species, gonads are pairs structures located dorsally in region of the abdominal cavity and fused in posterior extremity forming the oviduct and sperm duct. In *R. voulezi*, the ovarian development was classified in phases such as immature, development (initial, intermediate and final), capable to spawning and regression, and testicular development in phases such as immature, development, capable to release sperm and regeneration, with females in the capable spawning phase in the months from December to March, period with the highest values of IGS and ΔK . For *S. melanoderdatum*, females and males collected in VE showed the highest values of weight and total length on collection period ($p < 0.05$), however it was not verified macro and microscopic difference in the ovaries and testicles of animals on VE or TR, being determined four phases for gonadal development (immature, developing, capable spawning/release sperm and regeneration). Females and males of *S. melanoderdatum* capable to spawning were collected from October to December, period with the highest values of IGS and ΔK . In testicle of *S. melanoderdatum* was evidenced ovarian follicles in primary growth.

Keywords: Ovary, testis, condition factor, silver catfish, IGS, reproduction

Sumário

Lista de Tabelas.....	7
Lista de Figuras.....	8
Comitê de Ética na Experimentação Animal e Aulas Práticas – CEEAAP/UNIOESTE - Protocolo 01912.....	10
1. Introdução Geral.....	11
2. Objetivo Geral.....	13
3. Capítulo 1. - Revisão Bibliográfica.....	14
3.1. Área de estudo: Rio Iguaçu	14
3.2. Espécie estudada.....	15
3.2.1. <i>Rhamdia voulezi</i>	15
3.2.2. <i>Steindachneridion melanoderdatum</i>	17
3.3. Reprodução em peixes.....	20
3.3.1. Maturação ovariana	23
3.3.2. Maturação testicular	26
3.4. Referência Bibliográfica.....	29
4. Capítulo. 2. - Desenvolvimento ovariano e testicular do <i>Rhamdia voulezi</i> , mantidos em tanque-rede	43
4.1. Introdução.....	43
4.2. Material e Métodos.....	44
4.3. Resultados e Discussão.....	45
4.4. Conclusão	55
4.5. Referências	56
5. Capítulo. 3. - Desenvolvimento ovariano e testicular de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> estocados em viveiro escavado de terra e tanque-rede.....	62
5.1. Introdução.....	62
5.2. Material e Métodos.....	63
5.3. Resultados e Discussão.....	65
5.5. Referência.....	76

Lista de Tabelas

Tabela 1. Intervalo de peso e comprimento total de fêmeas e machos para o período de coleta e média seguida do desvio padrão para peso e comprimento total de fêmeas e machos em diferentes fases de desenvolvimento ovariano e testicular.	47
Tabela 2. Fases de maturação dos ovários de <i>Rhamdia voulezi</i> mantido em tanque-rede.	49
Tabela 3. Fases de maturação dos testículos de <i>Rhamdia voulezi</i> mantidos em tanque-rede. .	49
Tabela 4. Correlação de Spearman entre temperatura da água (Temp.), comprimento (Comp.), peso do peixe (Pt), peso das gônadas (Pg), índice gonadossomático (IGS), índice víscerosomático (IVS), índice hepatossomático (IHS), índice gordura celomática (IGC) e ΔK (diferencial entre o fator de condição alométrico e somático) para <i>Rhamdia voulezi</i> mantidos em tanque-rede, fêmeas (itálico) e machos (negrito). Somente são apresentados os valores de correlação com significância ($p < 0,05$).	55
Tabela 5. Valor médio para peso e comprimento total de fêmeas e machos de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> mantidos em viveiro escavado de terra (VE) e tanque-rede (TR).	66
Tabela 6. Fases de maturação ovariana de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i>	68
Tabela 7. Fases de maturação testicular de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i>	68
Tabela 8. Correlação de Spearman entre os valores de temperatura da água, dos índices gonadossomático, hepatossomático, gordura celomática e fator de condição ΔK (diferencial entre fator de condição alométrico e somático) para <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> mantidos em tanque escavado de terra (VE) e tanque-rede (TR). Valores em itálico correspondem às fêmeas e negrito machos. Somente são apresentados os valores de correlação com significância ($p < 0,05$).	75

Lista de Figuras

Figura 1. Exemplar de <i>Rhamdia voulezi</i>	16
Figura 2. Exemplar de <i>Steindachneridion melanodermatum</i>	18
Figura 3. Esquema simplificado do sistema endócrino em peixes teleósteos, partindo do estímulo ambiental influenciando a produção e liberação de FSH (hormônio folículo-estimulante) e LH (hormônio luteinizante) pela hipófise atuando sobre os testículos (espermatogênese, maturação e espermição) e ovários (vitelogênese, maturação e desova) (adaptado de Baldisserotto, 2009).	22
Figura 4. Descrição esquemática das fases de desenvolvimento dos ovócitos a partir das ovogônias (oogônias), vitelogênese e maturação (Suwa e Yamashita, 2007; Nagahama e Yamashita, 2008; Lubzens et al., 2010).	24
Figura 5. Principais pontos de disfunção da maturação e desova em fêmeas mantidas em cativeiro: 1) inibição da vitelogênese, 2) inibição da maturação do ovócito pós-vitelogênese e 3) inibição da ovulação. Adaptado de Mañanos et al. (2009).	26
Figura 6. Representação esquemática da proliferação, do processo de espermatogênese e maturação, controle dos hormônios FSH (hormônio folículo-estimulante) e LH (hormônio luteinizante), e formação das diferentes células espermáticas e fases envolvidas. Adaptada de Planas e Swanson (2008); Mañanos et al. (2009) e Schulz et al. (2010).....	27
Figura 7. Representação esquemática da estrutura tubular delimitada pelas células mióides e lâmina basal, contendo os cistos, espermatogônias (ou outras células da linhagem espermática) e células de Sertoli (estruturas citoplasmáticas envolvendo os cistos). Adaptado de Schulz et al., (2010).	28
Figura 8. Variação mensal das variáveis abióticas da água no entorno do tanque-rede.....	46
Figura 9. Características macroscópicas dos ovários de <i>Rhamdia voulezi</i> . Fases do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento inicial (B), desenvolvimento intermediário (C), desenvolvimento final (D), apto a desova (E) e regressão (F).	48
Figura 10. Características macroscópicas dos testículos de <i>Rhamdia voulezi</i> . Fase do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento (B), apto a liberar espermatozoides (C) e regeneração (D).	48
Figura 11. Cortes histológicos de ovários de <i>Rhamdia voulezi</i> mantidos em tanque-rede (corados em HE). A, B) Ovários na fase imatura, presença de ovogônias (seta branca) e folículos ovarianos perinucleolares (PG). C, D e E) Ovários na fase de desenvolvimento nas subfases inicial, intermediária e final, respectivamente, com folículos ovarianos perinucleolares (PG) e ovócitos vitelogênicos em desenvolvimento primário (Vgt1), secundário (Vgt2) e terciário (Vgt3); F) Ovários aptos a desova com predomínio de ovócitos vitelogênicos terciários (Vgt3) e folículos ovarianos perinucleolares (PG); G) Ovários em fase de regressão com ovócitos atresícos (A) e folículos ovarianos perinucleolares (PG).	50
Figura 12. Cortes histológicos de testículos de <i>Rhamdia voulezi</i> mantidos em tanque-rede (corados em HE). A) Testículos em fase imatura com espermatogônias (Sg); B) Testículos em fase de desenvolvimento contendo diferentes células da linhagem espermática e espermatozoides (Sz); C) Testículos aptos a liberar espermatozoides com predomínio de espermatozoides (Sz); D) Testículos em fase de regeneração, ausência de espermatozoides.	51
Figura 13. Índice gonadossomático médio mensal (IGS) seguido do desvio padrão (barras) para <i>Rhamdia voulezi</i> mantidos em tanque-rede. Fêmeas (A) e Machos (B). Letras diferentes indicam significância a 5%.	52
Figura 14. Frequência percentual (%) mensal das fases e subfases de desenvolvimento gonadal do <i>Rhamdia voulezi</i> mantidos em tanque-rede. A) Fêmeas com a fase de	

desenvolvimento separada em subfases; B) Fêmeas com a fase de desenvolvimento agrupada; C) Machos. Número acima das barras indica à frequência absoluta.	53
Figura 15. Valores médios mensais do fator de condição alométrico (K) e fator de condição somático (K') para <i>Rhamdia voulezi</i> mantidos em tanque-rede. Letras diferentes indicam significância a 5% para os valores de ΔK (correspondendo ao distanciamento entre o fator de condição K e K') e barras indicam o desvio padrão para fator de condição K e K'. A) fêmeas; B) machos.	54
Figura 16. Variação mensal dos parâmetros abióticos temperatura, oxigênio dissolvido e pH na água no viveiro escavado de terra (A) e no tanque-rede (B).	65
Figura 17. Características macroscópicas dos ovários de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> . Fases do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento (B), apto a desova (C) e regeneração (D).	67
Figura 18. Características macroscópicas dos testículos de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> . Fases do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento (B), apto a liberar esperma (C) e regeneração (D).	67
Figura 19. Cortes histológicos de ovários de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> (corados em HE). A) Ovários na fase imatura, presença de ovócitos em crescimento primário (PG) sem inclusões citoplasmáticas. B e C) Ovários na fase de desenvolvimento com ovócitos em crescimento primário (PG) e ovócitos vitelogênicos primários (Vgt1), secundários (Vgt2) e terciários (Vgt3); F) Ovários aptos a desova com predomínio de ovócitos vitelogênicos terciários (Vgt3) e ovócitos em crescimento primário (PG), observa-se a presença de folículos pós-ovulatório (POF); G) Ovários em fase de regeneração com ovócitos em crescimento primário (PG) e folículos pós-ovulatório (POF).	69
Figura 20. Cortes histológicos de testículos de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> (corados em HE). A) Testículos na fase imatura com espermatogônias (Sg); B) Testículos em fase de desenvolvimento contendo diferentes células da linhagem espermática e espermatozoides (Sz) incluindo espermatogônias (Sg); C) Testículos aptos a liberar esperma com predomínio de espermatozoides (Sz); D) Testículos em fase de regeneração, ausência ou quantidade residual de espermatozoides (Sz), túbulos seminíferos delimitados e presença de espermatogônias (Sg).	70
Figura 21. Cortes histológicos de testículos de exemplares hermafroditas de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> (corados em HE). A e B) Presença de ovócitos em crescimento primário (PG) sem inclusões citoplasmáticas imersos no tecido testicular (T) em desenvolvimento, contendo diferentes células da linhagem espermática, incluindo espermatogônias (Sg) e espermatozoides (Sz).	70
Figura 22. Valores médios do índice gonadossomático (IGS) de <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> mantidos em viveiro escavado de terra (VE) e tanque-rede (TR) agrupados nos meses junho/agosto, outubro/dezembro e fevereiro/abril. Letras distintas sobre as barras indicam diferença estatística para o mesmo sexo e sistema de cultivo (TR e TV) entre os meses agrupados e asterisco indica diferença estatística entre os sistemas de cultivo para o mesmo sexo e mês agrupado.	71
Figura 23. Frequência percentual (%) bimestral das fases de desenvolvimento gonadal do <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> para fêmeas (A) e machos (B) mantidos em viveiro escavado de terra e, fêmeas (C) e machos (D) mantidos em tanque-rede.	72
Figura 24. Valores médios bimestrais do fator de condição alométrico (K) e somático (K') para <i>Steindachneridion melanoderdatum</i> mantidos em viveiro escavado de terra (A - Fêmea e B - Macho) e tanque-rede (C - Fêmea e D - Macho). O distanciamento entre K e K' representa os valores de ΔK . Letras distintas entre os meses de coleta indicam diferença significativa para os valores de ΔK	74

Comitê de Ética na Experimentação Animal e Aulas Práticas – CEEAAP/UNIOESTE - Protocolo 01912



PRO-REITORIA DE PESQUISA E POS-GRADUACAO
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL E AULAS PRÁTICAS
RUA UNIVERSITÁRIA, 2069 – PRÉDIO DA BIBLIOTECA – CAMPUS DE CASCAVEL - JD. UNIVERISTÁRIO
FONE: (45) 3220-3272 E 3277 - CEP 85819-110 - CASCAVEL – PR

Comitê de Ética na Experimentação Animal e Aulas Práticas – CEEAAP/UNIOESTE

PARECER DE APROVAÇÃO DE PROJETO

Protocolo de Experimentação Animal nº: **01912**

Título do Projeto: **Desenvolvimento ovocitário e análise estrutural de fertilização de duas espécies endêmicas da bacia do rio Iguaçu mantidos em dois sistemas de cultivo.**

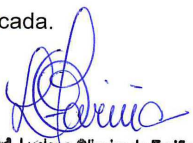
Solicitante: **Aldi Feiden**

O projeto acima foi **aprovado**, conforme Ata 03-2012 em reunião ocorrida em 15-05-2012 realizada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Unioeste, desde que seguido o protocolo proposto e avaliado por este Comitê.

Lembramos que, de acordo com as atribuições, o CEEAAP se resguarda do direito de realizar visitas aos locais onde os projetos serão executados com finalidade de acompanhamento.

Ao término da vigência do projeto, após o envio do relatório final, o coordenador receberá um Certificado de que o protocolo realizado seguiu os princípios da experimentação animal, de acordo com sua respectiva ata de aprovação em data especificada.

Cascavel, 15 de Maio de 2012..


Profª Drª Luciana Oliveira de Faria
Coordenadora do CEEAAP/Unioeste
Portaria 3244/2011 - GRE

1. Introdução Geral

O Rio Iguaçu, localizado ao sul do Estado do Paraná, Brasil, apresenta alto endemismo devido ao seu isolamento natural provocado principalmente pelas Cataratas do Iguaçu, (Júlio Jr. et al., 1997; Zawadzki et al., 1999; Agostinho et al., 2002; Abell et al., 2008; Baumgartner et al., 2012) e seu ultimo trecho, baixo Rio Iguaçu, apresenta um atrativo para aproveitamento hidrelétrico, apresentando vários reservatórios (Baumgartner et al., 2012) que ocupam 41% do curso total, alterando seus atributos físicos, químicos e biológicos (Júlio Jr. et al., 1997).

Entre as espécies encontradas no baixo Rio Iguaçu, Baumgartner et al. (2012) descreveram três do gênero *Rhamdia* (*R. voulezi*, *R. branneri* e *Rhamdia* sp) e uma do gênero *Steindachneridion* (*S. melanoderdatum*). Segundo os autores, *R. voulezi* é facilmente encontrada e de grande porte em relação às demais espécies na mesma bacia e difere das demais congêneres devido ao perfil reto entre o processo supraoccipital e a nadadeira dorsal, esta alcançando a nadadeira adiposa quando adpressa. Popularmente conhecido como surubim do Iguaçu, *S. melanoderdatum* (Garavello, 2005) pode atingir 70 cm de comprimento e 15 kg de peso vivo (Feiden et al., 2006a, 2006b, Bittencourt et al., 2012; 2013), como as demais espécies do gênero, é de hábito carnívoro e de grande interesse para pesca e piscicultura (Zaniboni Filho et al., 2004). Em ambiente natural sua captura é ignóbil (Severi e Cordeiro, 1994; Agostinho et al., 2002) e restrita a jusante do reservatório de Segredo (Garavello et al., 1997; Garavello, 2005), sendo considerada a inclusão em futuras listas de espécies ameaçadas de extinção (Baumgartner et al., 2012).

Conhecer a biologia reprodutiva dessas espécies é o primeiro passo para aplicação ou desenvolvimento de técnicas reprodutivas. Em cativeiro, a reprodução controlada atende diferentes propósitos, entre eles a conservação da espécie e reposição dos estoques em ambiente natural (Ludwig et al., 2005) além de permitir a produção de formas jovens destinadas a produção comercial. Estudos recentes visam elucidar essas lacunas quanto à biologia reprodutiva e sua reprodução controlada com o objetivo de aumentar a ocorrência das em ambiente natural e sua exploração comercial em cativeiro.

Os teleósteos apresentam extensa multiplicidade nas estratégias e táticas reprodutivas, alocando energia via alimentação e utilizando parte da mesma para a reprodução (Vazzoler, 1996) permitindo o processo de fertilização de uma célula haplóide (n) feminina por uma masculina, sendo essa partilha de material genético entre indivíduos responsável pela perpetuação da espécie (Fávaro e Oliveira, 2012).

A maioria das espécies de água doce apresentam reprodução sexuada (Bone et al., 1999) com fecundação externa por meio da liberação dos gametas na água; fecundação interna com o desenvolvimento externo; fecundação e desenvolvimento interno com a liberação do ovo com o embrião já desenvolvido; e fecundação e desenvolvimento interno com diferentes relações de dependência trófica entre o embrião e o corpo materno (Vazzoler, 1996). Em relação à frequência dos eventos reprodutivos, são classificados em semelparidade, ocorrendo um único evento reprodutivo ao longo da vida, e iteroparidade, com vários eventos reprodutivos no ciclo de vida (Fávaro e Oliveira, 2012). O hermafroditismo é outro mecanismo reprodutivo principalmente, em espécies marinhas situadas em regiões de corais (Bone et al., 1999). Nesse mecanismo reprodutivo ocorre à presença de gônadas com porções femininas e masculinas, de forma simultânea, protândria e protogínica (Vazzoler, 1996; Fávaro e Oliveira, 2012).

Vários são os fatores envolvidos no controle da reprodução em peixes. O sistema endócrino é responsável pelo controle da atividade ovariana e testicular através do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (Murgas et al., 2009, Chen e Ge, 2011). Esse eixo resulta em um *efeito cascata* das funções metabólicas do sistema neuroendócrino, uma ampliação a cada etapa (Schmidt-Nielsen, 1996; Randall et al., 2000). Porém, os fatores abióticos modulam esse eixo, e sua implicação no processo de desenvolvimento das gônadas é pouco conhecido (Schulz et al., 2001; Bayarri et al., 2003; Weltzien, et al., 2004; Bobe e Labbé, 2010; Taranger et al., 2010).

Os estudos envolvendo a classificação das gônadas são fundamentais para a compreensão do ciclo de vida (Takahashi et. al., 2008), permitindo o desenvolvimento e aprimoramento das técnicas aplicadas à reprodução controlada, apesar do processo fisiológico ser semelhante, cada espécie responde de forma específica a manipulação dos eventos reprodutivos. Desta forma, tecnologias desenvolvidas para uma espécie, não se aplicam ou não são diretamente transferíveis para outras espécies (Donaldson, 1996).

2. Objetivo Geral

Rhamdia voulezi

Descrever o desenvolvimento ovocitário e testicular da espécie no primeiro ciclo reprodutivo, quando criados em tanque-rede.

Objetivos específicos:

- Descrever de forma macro e microscopicamente o desenvolvimento de maturação ovocitário e testicular;
- Relacionar os fatores abióticos ao desenvolvimento ovocitário e testicular;
- Determinar a frequência percentual mensal dos estádios de desenvolvimento ovocitário e testicular;
- Verificar a variação dos valores médios do índice gonadosomático, viscerossomático, hepatossomático e gordura celomática;
- Verificar a utilização dos valores do índice ΔK como indicador de período reprodutivo.

Steindachneridion melanodermatum

Descrever o desenvolvimento ovocitário e testicular da espécie com quatro anos vida, mantidos em dois sistemas (tanque-rede e viveiro escavado de terra.

Objetivos específicos:

- Descrever macro e microscopicamente o desenvolvimento ovocitário e testicular;
- Relacionar os fatores abióticos ao desenvolvimento ovocitário e testicular;
- Determinar a frequência percentual bimestral dos estádios de desenvolvimento ovocitário e testicular;
- Verificar a variação dos valores bimestrais do índice gonadosomático
- Verificar a utilização dos valores do índice ΔK como indicador de período reprodutivo;
- Verificar a influência nos valores médios bimestrais do índice gonadosomático e processo de maturação gonadal em tanque-rede e viveiro escavado de terra.

3. Capítulo 1. - Revisão Bibliográfica

3.1. Área de estudo: Rio Iguaçu

O rio Iguaçu, localizado ao sul do Estado do Paraná, apresenta a maior bacia hidrográfica do estado, abrangendo uma área de aproximadamente 72.000 km² percorrendo 1060 km desde a sua nascente na vertente ocidental da Serra do Mar, até a foz, no rio Paraná (Paiva, 1982). Por meio das características geomorfológicas, o rio Iguaçu é subdividido em três regiões, alto, médio e baixo (Baumgartner et al., 2012) pela formação dos três planaltos paranaenses correspondendo a região de Curitiba, Ponto Grossa e Guarapuava, apresentando quedas como o Salto Caiacanga entre o alto e médio Iguaçu, Salto Grande, Salto Santiago, Salto Osório e as Cataratas do Iguaçu no baixo rio Iguaçu.

O último trecho apresenta vários reservatórios (Baumgartner et al., 2012), devido ao elevado desnível que constitui um atrativo para o aproveitamento hidrelétrico alterando notavelmente seus atributos físicos, químicos e biológicos, transformando corredeiras e saltos em grandes reservatórios que ocupam 41% de seu curso total (Júlio Jr. et al, 1997).

O isolamento natural, provocado pelas quedas de água principalmente, pelas Cataratas do Iguaçu provocou alto endemismo, que é relatado para o rio Iguaçu entre 51 e 80% (Júlio Jr et al., 1997; Zawadzki et al., 1999; Agostinho et al., 2002; Abell et al., 2008; Baumgartner et al., 2012). Segundo Agostinho et al. (2002) a distribuição longitudinal da ictiofauna não é uniforme, pois algumas espécies são encontradas apenas nas regiões de maior altitude, enquanto outras, nas regiões mais baixas, apresentando graus de dominância distintos ao longo do rio. Este, por sua vez, caracteriza-se por ter um grande número de espécies de pequeno e médio porte, excetuando-se o grande pimelodídeo, *Steindachneridion melanoderdatum*, considerado o maior peixe da bacia, encontrado principalmente em trechos onde o rio ainda é preservado e de águas rápidas (Garavello, 2005).

Segundo Daga e Gubiani (2012) a biodiversidade é afetada pelos processos naturais, porém, atualmente as taxas de extinção são maiores do que o esperado, isto devido à perda de habitat e a introdução de espécies exóticas fatores de possível diminuição da biodiversidade (Rodríguez et al., 2001; Daga e Gubiani, 2012). Conforme destacado, a bacia do rio Iguaçu foi e está constantemente sendo modificada e impactada, principalmente pela perda de habitat por meio de barragens construídas em seu fluxo original, sendo imprescindível a tomada de medidas de conservação assegurando a permanência e manutenção da biodiversidade do rio Iguaçu.

3.2. Espécie estudada

3.2.1. *Rhamdia voulezi*

O gênero *Rhamdia* é encontrado desde o sudeste do México até o centro da Argentina (Nelson, 2006; Fracalossi et al., 2004; Baldisserotto e Radüns Neto, 2005) e sua sistemática é confusa.

Classificação segundo Nelson (2006)

Super classe Pisces

Classe Actinopterygii

Ordem Siluriformes

Família Heptapteridae

Gênero *Rhamdia*

Segundo Silfvergrip (1996), o gênero *Rhamdia* apresenta inúmeras espécies, porém, em sua maioria sinônima, sugerindo o agrupamento das mesmas. No entanto, Perdices et al. (2002) analisando o DNA mitocondrial, verificou que algumas foram agrupadas de forma errônea, sugerindo a revisão dessas espécies.

O jundiá, nome comum às espécies do gênero *Rhamdia* para a região sul do Brasil, é um peixe de rápido crescimento, fácil adaptação à criação intensiva, rusticidade, facilidade na indução à reprodução, alta taxa de fecundação, carne saborosa com baixo teor de gordura e com poucas espinhas obtendo boa aceitação pelo mercado consumidor (Luchini e Avendaño, 1985; Baldisserotto e Radünz Neto, 2004).

Baumgartner et al. (2012) listaram as espécies de peixes do baixo rio Iguaçu, entre elas do gênero *Rhamdia*, sendo descrita *R. voulezi*, *R. branneri* e *Rhamdia* sp. Segundo os autores, o *R. voulezi* difere das demais espécies encontradas na bacia do rio Iguaçu, sendo considerada endêmica, facilmente encontrada e de grande porte (>400 mm) em relação às demais da bacia do rio Iguaçu.

Chave de identificação para as espécies do gênero *Rhamdia* do baixo rio Iguaçu (Baumgartner et al., 2012).

1. Perfil convexo entre o processo supraoccipital e a nadadeira dorsal *Rhamdia* sp.
- 1'. Perfil reto entre o processo supraoccipital e a nadadeira dorsal 2

2. Nadadeira dorsal alcança a adiposa, quando adpressa *R. voulezi*
 2'. Nadadeira dorsal não alcança a adiposa, quando adpressa *R. branneri*

Espécimes de *R. voulezi* (Figura 1) são registradas em distintos ambientes na bacia do rio Iguaçu (Severi e Cordeiro, 1994; Garavello et al., 1997; Baumgartner et al., 2006; Novakowski et al., 2007; Baumgartner et al., 2012; Daga e Gubiani, 2012). Inicialmente, esta espécie foi considerada como sinônimo de *Rhamdia quelen* (Silfvergrip, 1996), no entanto, o autor não verificou material coletado da bacia do rio Iguaçu (Baumgartner et al., 2012).



Figura 1. Exemplar de *Rhamdia voulezi*.

Considerando a concentração de espécies endêmicas na bacia do rio Iguaçu provocada por barreiras naturais (Baumgartner et al., 2012) e as diferenças cariotípicas entre as espécies do gênero *Rhamdia* desta bacia (Abucarma e Martins-Santos, 2001), Baumgartner et al. (2012) consideram como válida a descrição de *R. voulezi* e as congêneres *R. branneri* e *Rhamdia* sp., esta segundo Baumgartner et al. (2012) em estudo por Shibatta e Garavello.

Trabalhos científicos com *R. voulezi* foram realizados em relação a nutrição, desenvolvimento embrionário e utilização de anestésico. Feiden et al. (2010) testaram dietas formuladas com ingredientes convencionais e orgânicas, e não observaram diferenças no desempenho durante a fase juvenil, sugerindo a utilização desses ingredientes como alternativa para produção e comercialização de um produto diferenciado e de valor agregado. Freitas et al. (2011) avaliando níveis de proteína e energia para juvenis da espécie indicaram a utilização de dietas contendo 30% de proteína bruta e 3250 kcal de energia digestível por kg⁻¹ de ração. Reis et al. (2011) avaliaram níveis de vitamina C na dieta para larvas e não verificaram influência nos tratamentos com níveis superiores a 600 mg.kg de dieta de vitamina. Finkler et al. (2012) não encontraram diferenças no desempenho de larvas alimentadas com dietas formuladas com diferentes fontes de lipídio, sendo óleo de soja, óleo de linhaça e óleo de vísceras de aves. Reis et al. (2012) testaram a mesma dieta na forma farelada, peletizada e extrusada, e encontraram desempenho satisfatório nos juvenis

arraçoados com dieta peletizada. Sividanes et al. (2012) descreveram o desenvolvimento embrionário, observando as fases de clivagem, mórula e blastômero com eclosão após 492,75 °C unidades térmicas acumuladas (UTA). Diemer et al. (2012) testaram a utilização do eugenol como anestésico em diferentes classes de peso dos peixes (32,5, 75,0, 150,0, 300,0, e 400,0 g) indicando a dose de 50mg.L⁻¹ em todas as classes.

Para a congênera *R. quelen*, importante espécie para região sul do Brasil (Gomes et al., 2000) e de grande interesse para pesquisadores e piscicultores (Rodrigues-Galdino et al., 2009), as informações disponíveis na literatura são amplas, desde a sua reprodução (Bombardelli et al., 2006; Longo e Nuñez, 2010), nutrição de reprodutores (Reidel et al., 2010; Coldebella et al., 2011; Tessaro, et al., 2012), desenvolvimento inicial (Ferreira et al., 2001; Pereira et al., 2006; Galdino et al., 2009), larvicultura (Santinón et al., 2010; Diemer et al., 2012), nutrição (Signor et al., 2004; Carneiro e Mikos, 2005; Meyer e Fracalossi, 2004; Oliveira e Fracalossi, 2006; Hernández et al., 2012), sanidade (Carneiro et al., 2005), hematologia (Tavares-Dias et al., 2002), fisiologia (Barcellos et al., 2006; Golombieski, et al., 2012), entre outras áreas.

3.2.2. *Steindachneridion melanodermatum*

O gênero *Steindachneridion* apresenta seis espécies descritas, distribuídas nas diferentes bacias hidrográficas brasileiras, sendo: *S. amblyurum* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) endêmico do rio Jequitinhonha, *S. parahybae* (Steindachner, 1877) endêmico do rio Paraíba do Sul, *S. doceanum* (Eigenmann & Eigenmann, 1889) endêmico Rio Doce, *S. scriptum* e *S. punctatum* (Miranda Ribeiro, 1918) endêmico do rio Paraná e Uruguai e *S. melanodermatum* (Garavello, 2005) endêmico do rio Iguaçu. As espécies *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. parahybae* e *S. scriptum* são listadas como fauna brasileira ameaçada de extinção (Machado et al., 2008), classificando-as nas categorias Cr, Cr, Cr e En, respectivamente, classificação determinada pela International Union for Conservation of Nature (IUCN, 2001).

Classificação segundo Nelson (2006) e Nakatani et al., (2001)

Super classe Pisces

Classe Actinopterygii

Ordem Siluriformes

Família Pimelodidae

Gênero *Steindachneridion*

Classificação segundo IUCN (2001) quanto ao risco de extinção:

- Criticamente em Perigo (Cr) - um táxon é considerado Criticamente em Perigo quando corre risco extremamente alto de extinção na natureza em futuro imediato.
- Em Perigo (En) - táxon que não está Criticamente em Perigo, mas corre risco muito alto de extinção na natureza em futuro próximo.
- Vulnerável (Vu) - táxon que não se enquadra nas categorias Criticamente em Perigo ou Em Perigo, mas corre risco alto de extinção na natureza em médio prazo.

Popularmente conhecida como surubim-do-Iguaçu (Figura 2), pintado, monjolo ou bocudo, foi descrito originalmente por Garavello (1991) como *Steindachneridion* sp., confirmado por Severi e Cordeiro (1994) e nomeada anos depois como *S. melanodermatum* (Garavello, 2005). Sua capturada no ambiente natural é baixa (Severi e Cordeiro, 1994; Agostinho et al., 2002) e restrita a jusante do reservatório de Segredo (Garavello et al., 1997; Garavello, 2005), região que encontra-se fortemente impactada pelos represamentos e intensa ocupação antrópica, colocando a espécie em risco de extinção (Feiden et al., 2006b) sendo considerada a inclusão desta espécie em futuras listas de espécies ameaçadas (Baumgartner et al., 2012) por se enquadrar no grupo de animais ameaçados (Bittencourt et al., 2013).



Figura 2. Exemplar de *Steindachneridion melanodermatum*.

O *S. melanodermatum* pode atingir 70 cm de comprimento e 15 kg de peso vivo (Feiden et al., 2006a, 2006b, Bittencourt et al., 2012; 2013), como as demais espécies do gênero, são de hábito carnívoro, de interesse para pesca e piscicultura (Zaniboni Filho et al., 2004). Segundo Bittencourt et al., (2013) a espécie vem despertando o interesse pela produção devido as suas características como qualidade na carne, ausência de espinhas intramusculares e bom rendimento de carcaça.

Segundo Nakatani et al. (2001) se conhece pouco sobre a biologia da espécie, principalmente, as relacionadas à reprodução e desempenho zootécnico nas formas jovens. Estudos recentes visam elucidar essas lacunas, com o objetivo de aumentar a ocorrência da espécie em ambiente natural e sua exploração comercial em cativeiro, através de trabalhos voltados a biologia da espécie, desenvolvimento de técnicas reprodutivas e avaliação zootécnica. Segundo Ludwig et al. (2005), a reprodução em cativeiro atende dois propósitos, conservação e reposição dos estoques na natureza.

Em ambiente natural, o *S. melanodermatum* apresenta comportamento reofílico, migrando em pelo menos uma fase de sua vida, desencadeando as alterações fisiológicas relacionadas ao período reprodutivo (Agostinho et al., 1997). Quando confinados, os estádios finais de desenvolvimento gonadal só são possíveis através das técnicas de tratamento hormonal em ambos os sexos (Ludwig et al., 2005). Os mesmos autores relatam resultados positivos na reprodução através de tratamento hormonal com extrato hipofisário em machos e fêmeas mantidos em cativeiro

Quanto à nutrição, comportamento, bem-estar e genética, alguns estudos foram realizados na última década. Feiden et al. (2005; 2006a; 2006b) em uma série de estudos, avaliaram o efeito de diferentes dietas (ração e alimento vivo) e sua combinação em ambiente escuro, influência da luminosidade associado à presença de refúgio (natural e artificial) e diferentes programas de alimentação com a avaliação do conteúdo estomacal, em larvas de surubim do Iguaçu com comprimento e peso inicial de 8,35 mm e 6,75 mg (Feiden et al., 2005, 2006b) e 18,02 mm e 62,2 mg (Feiden et al., 2006a). Os autores citam desempenho superior nas larvas que receberam alimento vivo mantidas em ambiente escuro (Feiden et al., 2005), ambiente escuro sem refúgio (Feiden et al., 2006a) e programa alimentar combinando ração mais artêmia (Feiden et al., 2006b).

Bittencourt et al. (2012) analisaram diferentes formas de processamento das dietas e verificaram que larvas com peso inicial de 0,14 g alimentadas com ração peletizada, apresentaram melhores índices na performance produtiva (peso final - 1,48g, comprimento final - 4,84cm, ganho de peso - 1,34g e conversão alimentar - 0,97) sem influências na sobrevivência (100%). Em outro estudo, Bittencourt et al. (2013) avaliando a densidade de estocagem para alevinos com peso inicial de 1,5 gramas em tanques-rede, encontraram maior peso final médio (69,21g) na menor densidade de estocagem, porém a sobrevivência não foi afetada entre as diferentes densidades de estocagem.

Em cultivos do gênero *Rhamdia* o protozoário *Ichthyophthirius multifiliis* é responsável por alta mortalidade (Brandão, 2004; Carneiro, 2004; Baldisserotto e Neto, 2005;

Carneiro et al., 2005), principalmente na fase de larvicultura. Klein et al. (2004) citam a ocorrência desse protozoário em alevinos de surubim do Iguaçu. Os autores testaram a utilização de diferentes produtos químicos no controle, sendo o indicado a utilização de formol inoculado na dosagem de 25mg.L por um período de sete dias.

Na área de genética, Swarça et al. (2006) descreveram a existência de cromossomos sexuais na espécie, porém Matoso et al. (2011a) reavaliaram e citam polimorfismo cromossômico em ambos os sexos. Matosso et al. (2011b) avaliaram indivíduos selvagens e F1 obtidos em cativeiro e ressaltam a necessidade de um programa de monitoramento genético dos reprodutores utilizados nos programas que visam a conservação da espécie através da reprodução programada, para permitir a variabilidade genética nas populações naturais.

3.3. Reprodução em peixes

Fatores como temperatura, fotoperíodo, oxigênio dissolvido, disponibilidade de alimento e outros variam amplamente no espaço e tempo, essa heterogeneidade no ambiente proporcionou ampla variedade de estratégias e táticas de ciclo de vida nos teleósteos, esses são capazes de alocar energia via alimentação e utilizar parte da mesma de modo a garantir seu sucesso reprodutivo (Vazzoler, 1996).

A reprodução pode ser definida como o processo pelo qual uma espécie se perpetua, transmitindo a seus descendentes as mudanças ocorridas em seu genoma (Vazoller, 1996) ou processo que consiste na fertilização de uma célula haplóide (n) feminina por uma célula haplóide (n) masculina, sendo essa partilha de material genético entre indivíduos responsável pela perpetuação das espécies, mantendo os estoques necessários para o equilíbrio do ambiente (Fávaro e Oliveira, 2012). Segundo Lowe-McConnel, (1999) o processo reprodutivo consiste na produção de indivíduos jovens que possam atingir o período reprodutivo e procriar, possibilitando a existência da espécie no ambiente.

A reprodução sexuada, espécies que apresentam indivíduos com sexo separado (gonocórico ou dióicos), fêmeas e machos (Vazoller, 1996; Fávaro e Oliveira, 2012) são maioria em peixes de água doce (Bone et al., 1999), apresentando fecundação externa com a liberação de gametas na água (ovuliparidade), fecundação interna com o desenvolvimento externo (oviparidade), fecundação e desenvolvimento interno com a liberação do ovo com o embrião previamente desenvolvido (ovoviviparidade) e fecundação e desenvolvimento interno com diferentes relações de dependência trófica entre o embrião e o corpo materno (viviparidade) (Vazzoler, 1996). A frequência dos eventos reprodutivos pode ser classificada

por semelparidade, ocorrendo um único evento reprodutivo ao longo da vida, e por iteroparidade, com vários eventos reprodutivos no ciclo de vida (Fávaro e Oliveira, 2012).

O hermafroditismo é outro mecanismo reprodutivo principalmente em espécies marinhas situadas em regiões de corais (Bone et al., 1999). Nesse mecanismo reprodutivo ocorre à presença de gônadas com porções femininas e masculinas em um mesmo indivíduo. Os hermafroditas são classificados em simultâneos, quando ocorre na gônada à porção feminina e masculina, sendo ambas as porções funcionais, protândrios que apresentam o desenvolvimento da porção testicular por primeiro e a porção feminina posteriormente e protogínicos ocorrendo o desenvolvimento no primeiro momento da porção feminina e posteriormente a porção masculina (Vazoller, 1996; Fávaro e Oliveira, 2012).

As espécies nativas de água doce empregadas na aquicultura brasileira apresentam, em sua maioria, sexos separados, fecundação e desenvolvimento externo, sem cuidado parental (exceto algumas espécies), presença de vitelo, larvas não desenvolvidas em sua totalidade após a ruptura do ovo e pós-larva com desenvolvimento em tempos distintos após a eclosão de acordo com a espécie (Godinho et al., 2007).

Vários são os fatores envolvidos no controle da reprodução (Figura 3). O sistema endócrino, por exemplo, é responsável pelo controle da atividade ovariana e testicular através do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (Murgas et al., 2009, Chen e Ge, 2011), via *neurohipófise* por meio de conexões neurais e *adenhipófise* por meio do sistema sanguíneo ou circulação porta até atingir ao tecido alvo com receptores específicos. Esse eixo resulta em um *efeito cascata* das funções metabólicas do sistema neuroendócrino, uma ampliação a cada etapa, tornando possível o controle do processo final por meio de mínimas quantidades do hormônio inicial (Schmidt-Nielsen, 1996; Randall et al., 2000). Porém, os fatores abióticos modulam esse eixo, e suas implicações no processo de desenvolvimento das gônadas é pouco conhecido para teleósteos nativos (Schulz et al., 2001; Bayarri et al., 2003; Weltzien, et al., 2004; Bobe e Labbé, 2010; Taranger et al., 2010). Devido à influência do ambiente no sucesso reprodutivo, a produção de jovens é realizada nos momentos favoráveis para sua sobrevivência, período com grande abundância de alimento e maior proteção contra predadores (Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007).

Segundo Fávaro e Oliveira (2012), a finalidade dos estudos reprodutivos em peixes atende diferentes propósitos, como a determinação do período reprodutivo, tipo e o local de desova, condições bióticas e abióticas apropriadas para a sobrevivência da prole, alterações na estratégia reprodutiva da espécie devido a mudanças no ambiente ou em áreas impactadas e aptidão zootécnica visando à produção comercial. Nesse contexto, os estudos envolvendo a

classificação das gônadas são fundamentais para a compreensão do ciclo de vida (Takahashi et. al., 2008) e sua manipulação uma importante ferramenta na conservação, reposição dos estoques naturais (Ludwig et al., 2005) e produção de formas jovens destinadas à produção aquícola.

Esses estudos geram informações valiosas para o desenvolvimento e aprimoramento das técnicas aplicadas à reprodução controlada, apesar do processo fisiológico ser semelhante, cada espécie responde de forma específica a manipulação dos eventos reprodutivos. Cada espécie é adaptada às condições ambientais específicas, de acordo com a temperatura, salinidade, concentração de oxigênio, pH, turbidez, vazão e fotoperíodo. Desta forma, biotecnologias desenvolvidas para uma espécie, não se aplicam ou não são diretamente transferíveis para outras espécies (Donaldson, 1996).

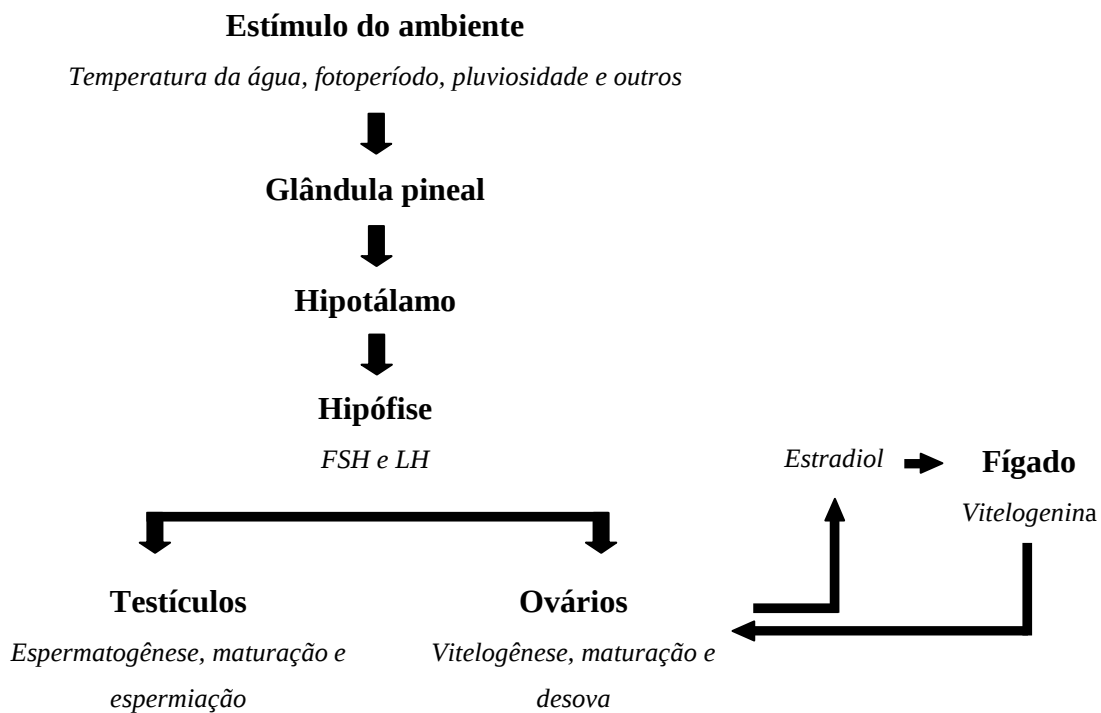


Figura 3. Esquema simplificado do sistema endócrino em peixes teleósteos, partindo do estímulo ambiental influenciando a produção e liberação de FSH (hormônio folículo-estimulante) e LH (hormônio luteinizante) pela hipófise atuando sobre os testículos (espermatogênese, maturação e espermição) e ovários (vitelogênese, maturação e desova) (adaptado de Baldisserotto, 2009).

3.3.1. Maturação ovariana

O processo de desenvolvimento e diferenciação dos folículos ovarianos, maturação e ovulação (Figura 4), envolve uma ação complexa e coordenada entre as moléculas reguladoras (Clelland e Peng, 2009) envolvidas na secreção de esteróides sexuais (Nagahama e Yamashita, 2008). As mudanças hormonais provocam uma série de alterações bioquímicas e morfológicas (Romagosa et al., 2005) caracterizados pela vitelogênese (Blythe et al., 1994) e regulada pelas gonadotrofinas pituitárias (Lubzens, 2010).

As gonadotrofinas FSH (hormônio folículo-estimulante) e LH (hormônio luteinizante) atuam em períodos distintos (Kawauchi et al., 1989). O FSH estimula o crescimento das gônadas controlando a síntese e entrada da vitelogenina nos ovócitos (Nagahama e Yamashita, 2008) enquanto a LH atua na maturação final e desova (Kawauchi et al., 1989; Connaughton et al., 1999).

A elevação do FSH, liberado pela hipófise (Connaughton et al., 1999), resulta na liberação de estradiol pelas células da granulosa (Mylonas et al., 2010), estimulando a produção de vitelogenina (Matsubara e Sawano, 1995) nos hepatócitos do fígado (Wallace e Selman, 1981). A vitelogenina produzida no fígado, por sua vez, é conduzida via corrente sanguínea até os ovários, ocorrendo a sua incorporação nos ovócitos (Tyler et al., 1988; Matsubara e Sawano, 1995; Jalabert, 2005; Lubzens et al., 2010). No entanto, a vitelogênese não está caracterizada somente pela incorporação de vitelogenina, uma proteína lipofosfoglicoproteína (Jalabert, 2005), mas por outras moléculas, como lipídios e vitaminas, permitindo, ao final desse processo, a fertilização do ovócito, contendo no interior do ovócito o material genético, proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e hormônios, moléculas fundamentais para o desenvolvimento do embrião (Lubzens et al., 2010)

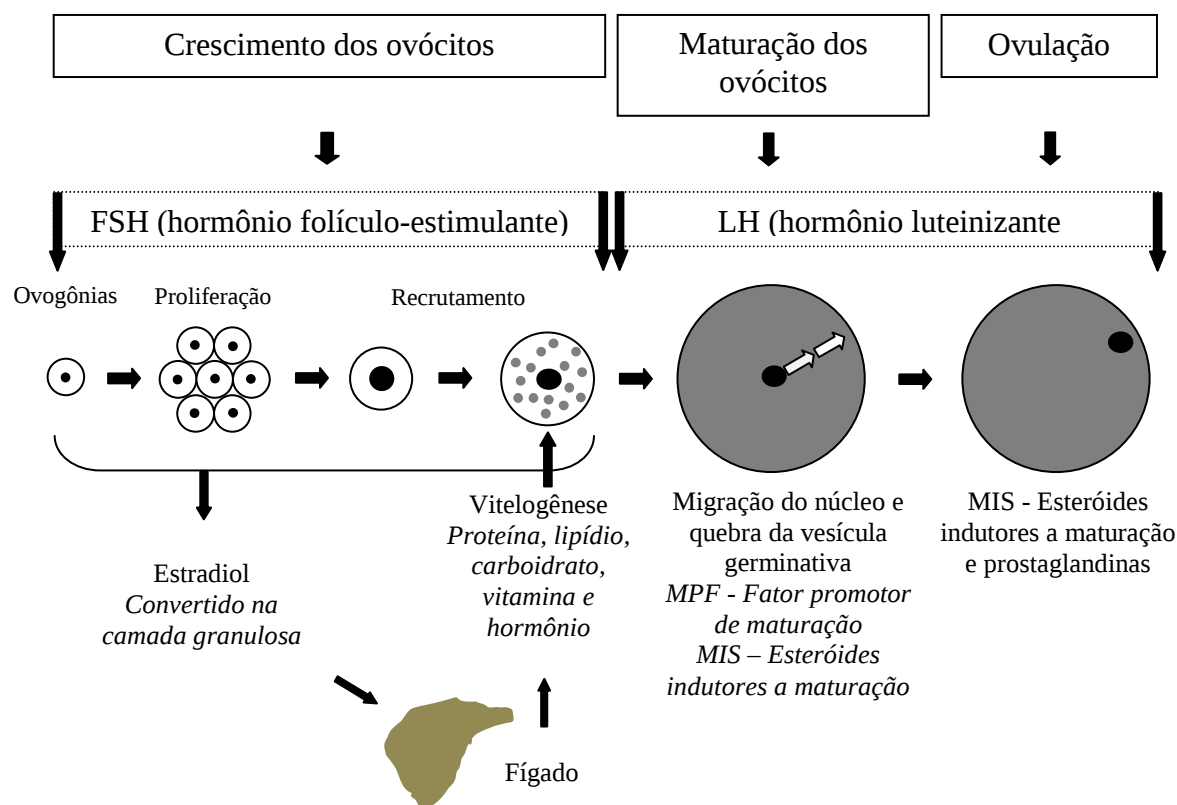


Figura 4. Descrição esquemática das fases de desenvolvimento dos ovócitos a partir das ovogônias (oogônias), vitelogênese e maturação (Suwa e Yamashita, 2007; Nagahama e Yamashita, 2008; Lubzens et al., 2010).

O desenvolvimento ovariano pode ser caracterizado por meio de técnicas histológicas, sendo classificado em fases e/ou estádios conforme as alterações estruturais. No geral, para espécies dulcícolas instituem-se três a cinco fases e/ou estádios, dependendo do critério estabelecido pelo pesquisador.

A classificação das fases de desenvolvimento permite acompanhar as alterações morfológicas nos ovários (Ganeco et al., 2001). Os autores descreveram para piracanjuba, *Brycon orbignyanus* mantidos em cativeiro, seis tipos (fases) de ovócitos: cromatina-núcleo (fase I), perinucleolar (fase II), alvéolo-cortical (fase III), vitelogênico (fase IV), pósvitelogênico (fase V) e atresicos (fase VI), classificando-a em quatro estádios: repouso, maturação inicial, maturação avançada e regressão.

Andrade et al. (2010) classificaram a escala de maturação de *Pseudoplatystoma corruscans* mantidos em tanque rede em maturação inicial, maturação intermediária, maturação final, regressão inicial e regressão final. Para *R. hilarii*, por meio de observações macro e microscópicas das gônadas e variação nos valores de índice gonadossomático,

Narahara et al. (1988) classificaram os estádios de desenvolvimento ovariano de exemplares oriundos da natureza em repouso, maturação, maduro, semi-esgotado e esgotado. Por sua vez, Reidel et al. (2010) descreveram seis estádios a partir de descrições macro e microscópica de ovários de *R. quelen* mantidos em tanque-rede e, recebendo dietas contendo distintos níveis de proteína e energia. Brown-Peterson et al. (2011) propuseram adoção de uma terminologia simples e universal para as fases do ciclo reprodutivo, aplicada a todos os elasmobrânquios e peixes teleósteos (fêmeas e machos) sendo as fases imaturo, desenvolvimento, apto a desova/liberar esperma, regressão e regeneração.

Indivíduos imaturos apresentam nos ovários ovogônias indiferenciadas envoltas pelos processos citoplasmáticos das células epiteliais pré-foliculares (Nakamura et al., 2011; Quagio-Grassiotto et al., 2011) formando cistos (Quagio-Grassiotto et al., 2013). Estas se proliferam e diferenciam por mitose (Mañanos et al., 2009; Lubzens et al., 2010) formando um conjunto de células denominado de linhagem germinativa (Pepling et al., 1999).

Após alguns ciclos mitóticos, as ovogônias sofrem o processo de meiose (até diplóteno), denominadas de ovócitos (Lubzens et al., 2010; Quagio-Grassiotto et al., 2011), ocorrendo a quebra das pontes citoplasmáticas pelas células pré-foliculares, individualizando os ovócitos (Quagio-Grassiotto et al., 2011) originando os folículos ovarianos (Quagio-Grassiotto et al., 2013) circundados pelas células da teca, membrana basal, célula da granulosa e córion (Baldiasserotto, 2009; Mañanos et al., 2009; Lubzens et al., 2010). Durante o período da vitelogênese a meiose fica estacionada na fase de prófase (Baldiasserotto, 2009).

Após a vitelogênese (maturação), a meiose é retomada (Quagio-Grassiotto et al., 2013) até a metáfase II (permanecendo nessa fase até a fertilização), momento em que o primeiro corpo polar (de menor tamanho) é expulso (Leonardo et al., 2004; Mañanos et al., 2009; Lubzens et al., 2010). Neste momento ocorre a migração do núcleo para o pólo animal (Mañanos et al., 2009) e a quebra da vesícula germinativa (Lubzens et al., 2010).

Pela incorporação de nutrientes, a composição iônica do citoplasma é alterada (Mañanos et al., 2009), causando drástica incorporação de água (hidratação) no interior dos ovócitos (Mañanos et al., 2009; Lubzens et al., 2010). A hidratação rompe a parede folicular, liberando o ovócito na cavidade ovariana ou abdominal, para posteriormente, ser expelido durante a desova (Mañanos et al., 2009).

Posteriormente, a ovulação, há o aparecimento dos folículos pós-ovulatórios que são reabsorvidos por não apresentarem função endócrina (Drummond et al., 2000). É possível observar, após 24 horas, o processo de degeneração, com o tecido pós-ovulatório vacuolizado, provavelmente contendo lisossomos (Romagosa et al., 2005). No entanto, a degeneração dos

ovócitos ou atresia folicular em ambiente natural ou artificial pode ocorrer antes e após a desova (Ganeco et al., 2001).

O processo de atresia está relacionado a disfunções no processo reprodutivo principalmente, em fêmeas mantidas em cativeiro, observando-se principalmente em três fases (Figura 5): 1) inibição da vitelogênese, 2) inibição da maturação do ovócito pós-vitelogênese e 3) inibição a ovulação (Mañanos et al., 2009).

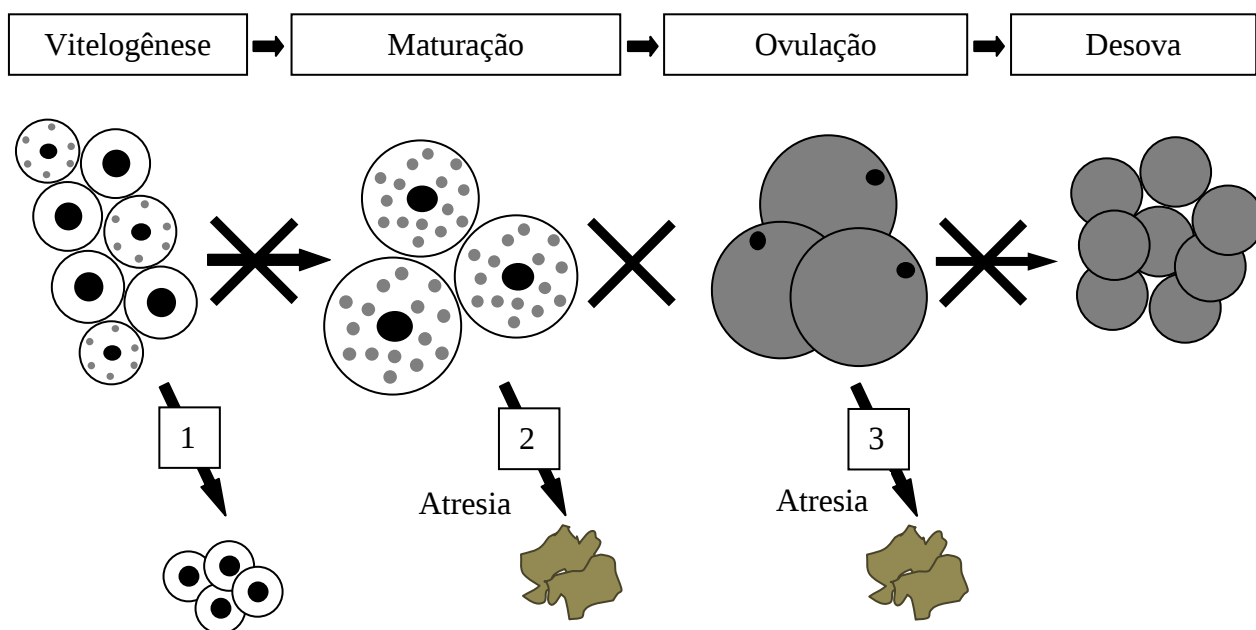


Figura 5. Principais pontos de disfunção da maturação e desova em fêmeas mantidas em cativeiro: 1) inibição da vitelogênese, 2) inibição da maturação do ovócito pós-vitelogênese e 3) inibição da ovulação. Adaptado de Mañanos et al. (2009).

3.3.2. Maturação testicular

O desenvolvimento reprodutivo em machos ocorre por meio da transformação de um indivíduo jovem imaturo em adulto, apto à reprodução. Esse processo de desenvolvimento envolve o período da puberdade e início da espermatogênese (Nóbrega et al., 2009; Weltzien et al., 2004). De forma geral, o processo de espermatogênese em peixes consiste na proliferação das células testiculares e diferenciação até se tornarem espermatozoides maduros haplóides, podendo classificá-las em quatro fases: 1) renovação das espermatogônias; 2) recrutamento e proliferação de espermatogônias; 3) meiose; e 4) espermiogênese (diferenciação dos espermátócitos em espermatozoides maduros) (Planas e Swanson, 2008).

As alterações nos testículos durante as fases de proliferação, espermatogênese e maturação até a liberação dos espermatozoides são reguladas e controladas pela ação dos

hormônios produzidos e liberados pela hipófise (FSH e LH), esteróides sexuais e fatores de crescimento produzidos no próprio testículo (Schulz et al., 2010). Os autores definem o processo em três fases: 1) fase mitótica com a proliferação de diferentes espermatogônias indiferenciadas; 2) fase da meiose com a presença de espermatócitos primários e secundários; e 3) fase da espermiogênese e diferenciação com as espermátides haplóides emergindo da meiose (Figura 6).

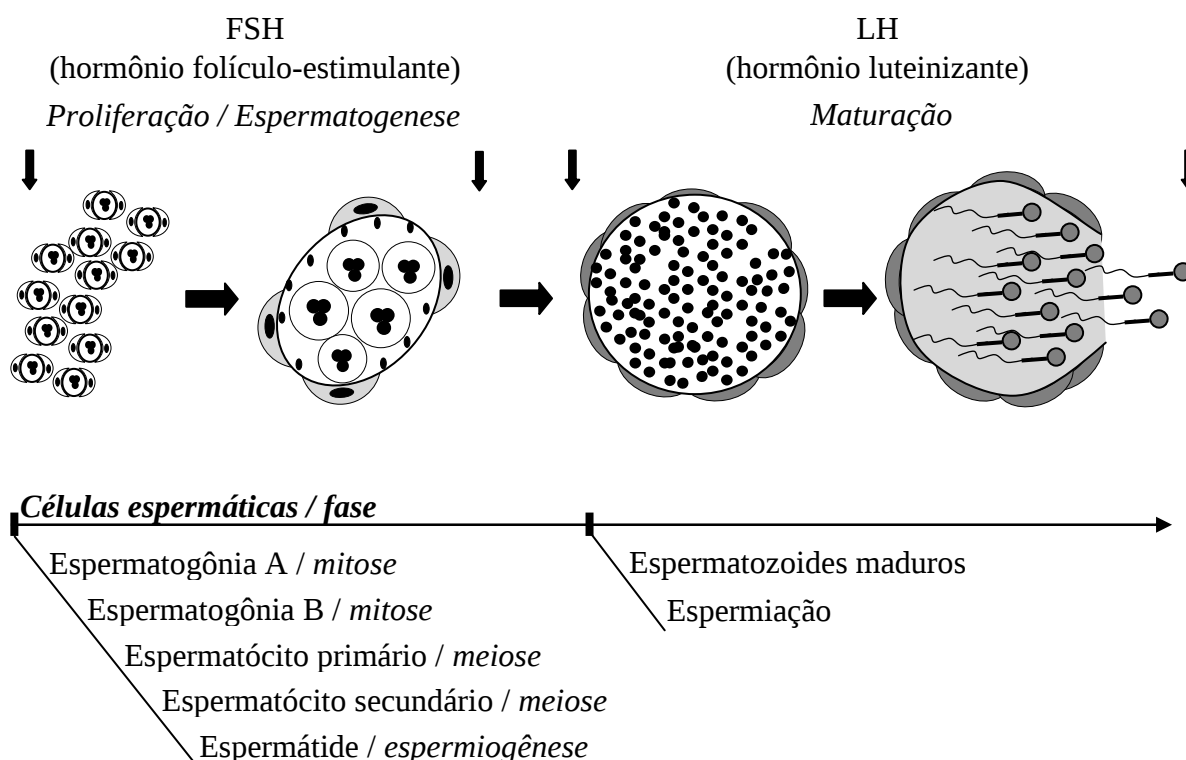


Figura 6. Representação esquemática da proliferação, do processo de espermatogênese e maturação, controle dos hormônios FSH (hormônio folículo-estimulante) e LH (hormônio luteinizante), e formação das diferentes células espermáticas e fases envolvidas. Adaptada de Planas e Swanson (2008); Mañanos et al. (2009) e Schulz et al. (2010).

Os testículos apresentam dois compartimentos principais, o intertubular e tubular. O compartimento intertubular apresenta células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, macrófagos, células do tecido neural e conjuntivo contínuo com a túnica albugínea (Koulish et al., 2002). O tubular é delimitado pela membrana basal, células mióides e epitélio germinativo que contém células de Sertoli com extensões citoplasmáticas e células germinativas encontradas em diferentes fases de desenvolvimento formando cistos com células da mesma idade (Figura 6) (Schulz et al., 2010).

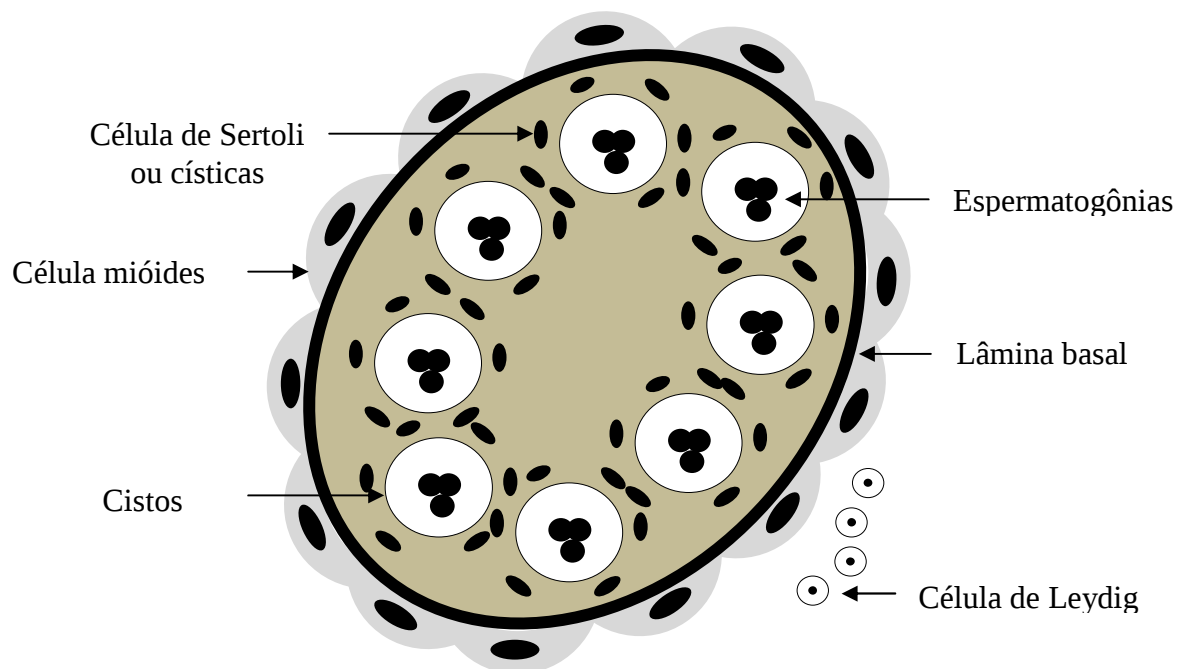


Figura 7. Representação esquemática da estrutura tubular delimitada pelas células mióides e lâmina basal, contendo os cistos, espermatogônias (ou outras células da linhagem espermática) e células de Sertoli (estruturas citoplasmáticas envolvendo os cistos). Adaptado de Schulz et al., (2010).

Peixes e anfíbios possuem duas particularidades em relação ao desenvolvimento das células espermáticas, primeiramente as extensões citoplasmáticas das células de Sertoli formam cistos com desenvolvimento sincrônico das células da linhagem espermática a partir de uma única espermatogônia, caracterizando o desenvolvimento cístico (Schulz et al., 2010), em segundo, a capacidade do desenvolvimento das diferentes células da linhagem espermática em indivíduos adultos (Schulz et al., 2005).

A distribuição ou arranjo espacial das espermatogônias nos testículos apresenta variação, podendo ser restrita, com maior concentração na região periférica dos testículos ocorrendo à migração para o lúmen à medida que sucede a meiose, e a distribuição irrestrita com a presença das espermatogônias em todo o testículo (Parenti e Grier, 2004; Schulz et al., 2010). Porém, observa-se em algumas espécies de peixes uma distribuição intermediária entre restrita e irrestrita (Schulz et al., 2010).

No final da mitose, as espermatogônias diferenciam-se por meiose em espermatócitos primários e secundários, envolvendo a recombinação e duplicação do DNA (Mañanos et al., 2009) permitindo gerar alta diversidade genética (Schulz et al., 2010). Posteriormente, surgem

as espermátides com células haplóides, desencadeando a espermiogênese (Mañanos et al., 2009).

O processo de espermiogênese envolve uma série de alterações morfológicas que levam a diferenciação a espermatozoides (Planas e Swanson, 2008; Mañanos et al., 2009; Schulz et al., 2010). Esta fase não envolve a proliferação celular, somente modificações, incluindo a redução drástica no tamanho (>80%) devido a condensação do núcleo e eliminação de organelas e citoplasma (Mañanos et al., 2009). Durante esta fase observam-se três tipos de espermátides conforme há condensação nuclear, sendo espermátide primária, intermediária e final (Schulz et al., 2010). A espermiogênese recebe três classificações com base na orientação do flagelo para o núcleo e rotação nuclear, sendo tipo I com flagelo perpendicular em relação ao núcleo, tipo II com flagelo desenvolvendo paralelamente ao núcleo sem rotação e tipo III com flagelo central sem rotação (Quagio-Grassiotto e Oliveira, 2008). Essas características são próprias de grupos taxonômicos, tornando-se uma importante ferramenta para análises filogenéticas em peixes (Spadella et al., 2007; Quagio-Grassiotto e Oliveira, 2008).

Com a espermiogênese completa, ocorre à ruptura das células de Sertoli (quebra das espermátides) e os espermatozoides são lançados para o lúmen testicular ocorrendo à maturação final e produção de fluido espermático pelas vesículas seminais permitindo o aumento no volume de sêmen e posterior liberação (Mañanos et al., 2009; Schulz et al., 2010).

3.4. Referência Bibliográfica

Abell, R.; Thieme, M.L.; Revenga, C.; et al. Freshwater ecoregions of the world: A new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *BioScience*. v.58, n.5, p.403-414, 2008.

Abucarma, M. e Martins-Santos, I. C. Karyotype and B chromosome of *Rhamdia* species (Pisces, Pimelodidae) endemic in the River Iguaçu basin. *Cytologia*, v.66, p.299-306, 2001.

Agostinho, A.A.; Gomes, L.C.; Fernandez, D.R. Suzuki, H.I. Efficiency of fish ladder for Neotropical ichthyofauna. *River Research and Application*, v.18, p.299-306, 2002.

Agostinho, A.A. e Gomes, L.C. Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo. Maringá: Eduem: Nupélia, 1997. 387p.

Andrade, V.X.L.; Honji, R.M.; Romagosa, E. Processo de maturação das gônadas de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) alimentado com dois níveis protéicos e suplementados com óleo de milho. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.62, n.2, p.332-342, 2010.

Baldisseroto, B. e Radunz Neto, J. Criação de jundiá. Santa Maria: Ed. UFSM, 2004. 232p.

Baldisserotto, B e Radünz Neto, J. Jundiá (*Rhamdia* sp.) In: Baldisserotto, B. e Gomes, L. C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria, editora UFSM, p.303-319, 2005.

Baldisserotto, B. Fisiologia de peixes aplicado à piscicultura. Ed. UFSM, 2.ed. Santa Maria, 2009. 352p.

Barcellos, L.J.G.; Ritter, F ; Kreutz, L.C.; Silva, L.B.; Cericato, L.; Quevedo, R. M. The color of illumination affects the stress response of jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy e Gaimard, Heptapteridae). Ciencia Rural, Santa Maria, v.36, n.4, p.1249-1252, 2006.

Baumgartner, D.; Baumgartner, G.; Pavanelli, C.S.; Silva, P.R.L.; Frana, V.A.; Oliveira, L.C.; Michelin, M.R. Fish, Salto Osório reservoir, Iguaçu river basin, Paraná state, Brazil. Check List, v.2, n.1, 2006.

Baumgartner, G.; Pavanelli, C. S.; Baumgartner, D.; Bifi, A. G.; Debona, T.; Frana, V. A. Peixes do baixo rio Iguaçu. Editora Eduem, p.203, 2012.

Bayarri, M.J.; Rodríguez, L.; Zanuy, S. et al. Effect of photoperiod manipulation on daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish Physiology and Biochemistry, v.28, p.37-38, 2003.

Bittencourt, F.; Signor, A.A.; Boscolo, W.R.; Coldebella, A.; Manske, C.; Feiden, A. Densidade de estocagem do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanoderdatum*) cultivado em tanque rede no reservatório Governador José Richa. Revista Cultivando o Saber, Cascavel, v.6, n.1, p.202-209, 2013.

Bittencourt, F.; Signor, A.A.; Boscolo, W.R.; Lui, T.A.; Boscolo, R.J.; Feiden, A. Dietas ferelada, peletizada ou pastosa para larvas de surubim do Iguazu. *Acta Iguazu*, v.1, n.3, p.1-7, 2012.

Blythe, W.G.; Helfrich, L.A.; Sullivan, C.V. Sex steroid hormone and vitellogenin levels in striped Bass (*Morone saxatilis*) maturing under 6-, 9-, and 12-month photothermal cycles. *General and Comparative Endocrinology*, v.94, p.122-134, 1994.

Bohe J. e Labbé, C. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, .535-548, 2010.

Bombardelli, R.A.; Morschbacher, E.F.; Campagnolo, R.; Sanches, E.A.; Syperreck, M.A. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimardm, 1824). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.4, p.1251-1257, 2006.

Bone, Q.; Marshall, N.B.; Blaxter, J.H.S. *Biology of Fishes*. Stanley Thornes, Ed 2º, 1999, 332p.

Brandão, D.A. Profilaxia e doenças. In: Baldisserotto, B. e Neto, J. R. *Criação de Jundiá*. Santa Maria, editora: UFSM, p.161-185, 2004.

Brown-Peterson, N. J.; Wyanski, D. M.; Saborido-Rey, F.; Maceicz, B. J.; Lowerre-Barbieri, S. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*, v.3, p.52-70, 2011.

Carneiro, P.C.F. Produção do jundiá em cativeiro. In: Baldisserotto, B. e Neto, J. R. *Criação de Jundiá*. Santa Maria, editora: UFSM, p.117-141, 2004.

Carneiro, P.C.F. e Mikos, J.D. Frequência alimentar e crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen*. *Ciência Rural*, v.35, n.1, p.187-191, 2005.

Carneiro, P.C.; Schorer, M.; Mikos, J.D. Tratamentos terapêuticos convencionais no controle do ectoparasita *Ichthyophthirius multifiliis* em jundiá (*Rhamdia quelen*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, n.1, p.99-102, 2005.

Chen, W. e Ge, W. Ontogenic expression profiles of gonadotropins (fshd and lhb) and growth hormone (gh) during sexual differentiation and puberty anset in female. *Biology of Reproduction*. v.86, n.3, p.1-11, 2011.

Clelland, E. e Peng, C. Endocrine/paracrine control of zebrafish ovarian development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v.312, p.42-52, 2009.

Coldebella, I. J.; Radünz Neto, J.; Mallmann, C. A.; Veiverberg, C. A.; Bergamin, G. T.; Pedron, F. A.; Ferreira, D.; Barcellos, L. J. G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. *Aquaculture*, v.312, p.137-144, 2011.

Connaughton, M.A. e Ainda, K. Female reproductive system, *Fish Encyclopedia of reproduction*. v.2, p.193-204, 1999.

Daga, V. S. e Gubiani, É. A. Variations in the endemic fish assemblage of a global freshwater ecoregion: Associations with introduced species in cascading reservoirs. *Acta Oecologica*, v.41, p.95-105, 2012.

Diemer, O.; Neu, D.H.; Sary, C.; Finkler, J.K.; Boscolo, W.R.; Feiden, A. *Artemia* sp. Na alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v.13, n.2, p.175-179, 2012.

Donaldson, E.M. Manipulation of reproduction in farmed fish. *Animal Reproduction Science*, v.42, p.381-392, 1996.

Drummond, C.D.; Bazzoli, N.; Rizzo, E. Postovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. *Journal of Experimental Zoology*, v.287, p.176-182, 2000.

Fávaro, L. F. e Oliveira, E. C. Ecologia reprodutiva em peixes. In: Ribeiro, C. A. O.; Reis Filho, H. S.; Grötzner, S. R. Técnicas e métodos para utilização prática em microscopia. São Paulo, editora Santos, p.422, 2012.

Feiden, A.; Hayashi, C.; Boscolo, W.R.; Signor, A. Desenvolvimento do Surubim do Iguaçu (*Steindachneridion* sp., Garavello (1991) (Siluroidei:Pimelodidae) em ambiente escuro durante a fase inicial, alimentado com diferentes dietas. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.26, n.1, p.109-116, 2005.

Feiden, A.; Hayashi, C.; Boscolo, W.R.; Reidel, A. Desenvolvimento de larvas de *Steindachneridion* sp. em diferentes condições de refugio e luminosidade. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.41, n.1, p.133-137, 2006a.

Feiden, A.; Hayashi, C.; Boscolo, W.R. Desenvolvimento de larvas de surubim-do-iguaçu (*Steindachneridion melanodermatum*) submetidos a diferentes dietas. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.6, p.2203-2210, 2006b.

Feiden, A.; Signor, A.A.; Diemer, O.; Sary, C.; Boscolo, W.R.; Neu, D.H.; Desempenho de juvenis de jundiá (*Rhamdia voulezi*) submetidos à alimentação com ração orgânica certificada e comercial. Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais, v.8, n.4, p.381-387, 2010.

Ferreira, A.A.; Nuñez, A.P.O.; Esquivel, J.R. Influência do pH sobre ovos e larvas de jundiá, *Rhamdia quelen* (Osteichthyes, Siluriformes). Acta Scientiarum, v.23, n.2, p.477-481, 2001.

Finkler, J.K.; Diemer, O.; Freitas, J.M.A.; Zaminhan, M.; Feiden, A.; Boscolo, W.R. Influência de diferentes fontes lipídicas na larvicultura de jundiá *Rhamdia voulezi*. Cultivando o Saber, v.5, n.2, p.130-139, 2012.

Fracalossi, D.M.; Meyer, G.; Santamaria, F.M. et al. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. Acta Scientiarum Animal Sciences, v.26, n., p.345-352, 2004.

Freitas, J.M.A.; Sary, C.; Luchesi, J.D.; Feiden, A.; Boscolo, W.R. Proteína e energia na dieta de jundiás criados em tanques-rede. Revista Brasileira de Zootecnia, v.40, n.12, p.2628-2633, 2011.

Ganeco, L.N.; Nakaghi, L.S.O.; Urbinati, E.C.; Dumont Neto, R.; Vasques, L.H. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba, *Brycon orbinyanus*, durante o ciclo reprodutivo. Boletim do Instituto de Pesca, v.27, n.2, p.131-138, 2001.

Garavello, J.C.; Pavanelli, C.S.; Suzuki, H.I. Caracterização da ictiofauna do rio Iguaçu. In: Agostinho, A.A.; Gomes, L.C. Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo. Maringá: Eduem, 1997. p.61-84

Garavello, J.C. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes:Pimelodidae). Neotropical Ichthyology, v.3, n.4, p.607-623, 2005.

Godinho, H.P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de reprodução, Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.31, n.3, p.351-360, 2007.

Golombieski, J.I.; Koakoski, G.; Becker, A.J.; Almeida, A.P.G.; Toni, C.; Finamor, I. A.; Pavanato, M.A.; Almeida, T.M.; Baldisserotto, B. Nitrogenous and phosphorus excretions in juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to different water hardness, humic acid, and pH levels. Fish Physiology and Biochemistry, v.39, p.837-849, 2012.

Gomes, L.C.; Golombieski, J.I.; Gomes, A.R.C.; Baldisserotto, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). Ciência Rural, v.30, n.1, p.179-185, 2000.

Hernández, D.R.; Santinón, J.J.; Sánchez, S.; Domitrovic, H.A. Dietary soybean meal on growth and intestinal morphology of South American catfish, *Rhamdia quelen*, larvae. Ciência Rural, v.42, n.9, p.1662-1668, 2012.

Jalabert, B. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. Reproduction Nutrition Development, v.45, p.261-279, 2005.

Júlio Jr., H.F.; Bonecker, C.C.; Agostinho, A.A. Reservatório de segredo e sua inserção na bacia do rio Iguaçu. In: Agostinho, A.A. e Gomes, L.C. Reservatório de segredo: bases ecológicas para ao manejo. Eduem, Maringá, 1997. p.1-10.

Kawauchi, H.; Suzuki, K.; Itoh, H.; Swanson, P.; Naito, N.; Nagahama, Y.; Nazaki, M. The duality of teleost gonadotropins. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 7, p. 29-38, 1989.

Klein, S., Feiden, A.; Boscolo, W.R.; Reidel, A.; Signor, A.; Signor, A.A. Utilização de produtos químicos no controle de *Ichthyophthirius multifiliis*, Fouquet (1876) em alevinos de surubim do Iguaçu *Steindachneridion sp.*, Garavello (1991). *Semina: Ciências Agrárias*, v.25, n.1, p.51-58, 2004.

Koulish, S., Kramer, C.R., Grier, H.J. Organization of the male gonad in a protogynous fish, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: Labridae). *Journal of Morphology*, v.254, 292-311, 2002.

Leonardo, A.F.G.; Romagosa, E.; Batlouni, S.R.; Borella, M.I. Characterization and hormonal efficiency in female cachara, *Pseudolatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), kept in captivity. *Aquaculture*, v.42, p.451-461, 2004.

Longo, R.S. e Nuñez, A.P.O. Temperatures for fertilization and hatching and their influence on determining the sex ratio of the silver catfish *Rhamdia quelen*. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, v.32, n.2, p.107-111, 2010.

Lowe-McConnell, R.H. Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais. (Trad.: Vazzoler, A.E.A.M.; Agostinho, A.A.; Cunningham, P.T.M.). São Paulo: EDUSP. 1999. p.19-38.

Lubzens, E.; Young, G.; Bode, J.; Cerdà, L. Oogenesis in teleostes: How fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, p.367-389, 2010.

Luchini, L.; Averdano, T. Primeros resultados de cultivo de un pez de aguas cálidas (*Rhamdia sapo*) con fines de producción y consumo humano. *Revista Argentina de Producción Animal*, v.4, n.5, p.621-629, 1985.

Ludwig, L.A.M.; Gomes, E.; Artoni, R.F. Um método de reprodução induzida para o surubim *Steindachneridion melanodermatum* (Siluriformes, Pimelodidae) do rio Iguaçu. *Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde*, v.11, n.3, 2005.

Machado, A. B. M.; Drummond, G. M.; Paglia, A. P. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, p.1420, 2008.

Mañanós, E.; Duncan, N.; Mylonas, C. Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: Cabrita, E.; Robles, V.; Herráez, P. Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species. Boca Raton: CRC Press, 2009. 549p.

Matoso, D. A.; Almeida Val, V. M. F.; Silva, M.; Moraes-Neto, A.; Almeida, M. C.; Vicari, M. R.; Moreira-Filho, O.; Artoni, R. F. Chromosomal polymorphism in *Steindachneridion melanodermatum* Garavello, 2005 (Siluriformes, Pimelodidae): a reappraisal the existence of sex chromosome system in the species. Reviews in Fish Biology and Fisheries, v.21, n.3, p.297-508, 2011a.

Matoso, D. A.; Silva, M.; Cortinhas, M. C. C.; Almeida, M. C.; Vicari, M. R.; Artoni, R. F. Two genetic stocks of *Steindachneridion melanodermatum* living in sympatry in nature and genetic variability of wild parents and F₁ generation. Genetics and Molecular Research, v.10, n.4, p.2606-2612, 2011b.

Matsubara, T. e Sawano, K. Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). Journal of Experimental Zoology, v.272, n.1, p.34-45, 1995.

Meyer, G.; Fracalossi, D.M. Protein requirement of jundia, *Rhamdia quelen*, fingerlings at two dietary energy concentrations. *Aquaculture*, v. 240, p. 331- 343. 2004.

Murgas, L.D.S.; Drumond, M.M.; Pereira, G.J.M.; Felizardo, V.O. Manipulacao do ciclo e da eficiencia reprodutiva em especies nativas de peixes de agua doce. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Suplemento, n.6, p.70-76, 2009.

Mylonas, C.C.; Fostier, A.; Zanuy, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology, v.165, p.516-534, 2010.

Nagahama, Y. e Yamashita, M. Regulation of oocyte maturation in fish. *Development, Growth and Differentiation*, v.50, p.195-219, 2008.

Nakamura S.; Kobayashi K.; Nishimura T.; Tanaka M. Ovarian germline stem cells in the teleost fish, Medaka (*Oryzias latipes*). *International Journal of Biological Sciences*, v.7, p.403-409, 2011.

Narahara, MY.; Basile-Martins, M.A.; Godinho, H.M.; Cipólli, M.N. Escala de maturidade, época de reprodução e influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento gonadal de *Rhamdia hillarii* (Valenciennes, 1840). *Boletim do Instituto de Pesca*, v.15, n2, p.201-211, 1988.

Nelson, J. S. *Fishes of the world*. ed.4, New York, 2006. 601p.

Nóbrega, R.H.; Batlouni, S.R.; França, L.R. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. *Fish Physiology Biochemistry*, v.35, p.197-206, 2009.

Novakowski, G.C.; Hahn, N.S.; Fugi, R. Alimentação de peixes piscívoros antes e após a formação do reservatório de Salto Caxias, Paraná, Brasil. *Biota Neotropica*, v.7, n.2, 2007.

Oliveira Filho, P.R.C. e Fracalossi, D.M. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.4, p.1581-1587, 2006.

Paiva, M.P. *Grandes represas do Brasil*. Editera Editorial, Brasília. 1982, 292p.

Parenti, L.R., Grier, H.J. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integrative Comparative Biology*, v.44, p.333-348, 2004.

Pepling, M.E.; Cuevas, M.; Spradling, A.C.; Germline cysts: A conserved phase of germ cell development? *Trends in Cell Biology*, v.9, p.257-262, 1999.

Perdices, A. Bermingham, E. Montilla, A. Doadrio, I. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei:Pimelodidae) in Central America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.25, p.172-189, 2002.

Pereira, C.R.; Barcellos, L.J.G.; Kreutz, L.C.; Quevedo, R.M.; Ritter, F.; Silva, L.B. Embryonic and larval development of jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy e Gaimard, 1824, Pisces, Teleostei), a South American catfish. *Brazilian Journal Biology*, v.66, n.4, p.1057-1063, 2006.

Planas, J.V. e Swanson, P. Physiological Function of Gonadotropins in Fish. In: Rocha, M.J.; Arukwe, A.; Kapoor, B.G. *Fish Reproduction Science* Publishes, 2008. p.37-66.

Quagio-Grassiotto, I., Oliveira, C. Sperm ultrastructure and a new type of spermiogenesis in two species of Pimelodidae, with a comparative review of sperm ultrastructure in siluriformes (Teleostei: Ostariophysi). *Zoologischer Anzeiger*, v.247, p.55-66, 2008.

Quagio-Grassiotto, I.; Grier, H.J.; Mazzoni, T.S.; Nóbrega, R.H.; Amorim, J.P. Activity of the ovarian germinal epithelium on the follicle formation and the oocyte development in the freshwater catfish *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes). *Journal Morphology*, v.8, p.1290-1306, 2011.

Quagio-Grassiotto, I.; Wildner, D.D.; Ishiba, R. Gametogênese de peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.37, n.2, p.181-191, 2013.

Randall, D.; Bruggren, W.; French, K. *Fisiologia animal: mecanismos e Adaptação*. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 2000. 729p.

Reidel, A.; Boscolo, W.R.; Feiden, A.; Romagosa, E. The effect of diets with different levels of protein and energy on the process of final maturation of the gametes of *Rhamdia quelen* stocked in cages. *Aquaculture*, v.298, p.354-359, 2010.

Reis, E.S.; Feiden, A.; Signor, A.; Zaminhan, M.; Finkler, J.K.; Boscolo, W.R. Suplementação de vitamina C na dieta para larvas de jundiá *Rhamdia voulezi*. *Ciência Animal Brasileira*, v.12, n.1, p.83-89, 2011.

Reis, E.S.; Feiden, A.; M.; Boscolo, W.R.; Freitas, J.M.A.; Zaminhan, M. Mahl, I. Processamento da ração no desempenho de juvenis de jundiá (*Rhamdia voulezi*) cultivados em tanque-rede. *Ciência Animal Brasileira*, v.13, n.2, p.205-212, 2012.

Rodrigues-Galdino, A.M.; Maolino, C.V.; Forgati, M. Donatti, L.; Mikos, J.D.; Carneiro, P.C. F.; Rios, F.S. Development of the neotropical catfish *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) incubated in different temperature regimes. *Zygote*, v.18, p.131-144, 2009.

Rodríguez, J.P. Exotic species introductions into South America: an underestimated threat? *Biodiversity and Conservation*, v.10, p.1983-1996, 2001.

Romagosa, E.; Batlouni, S.R.; Borella, M.I.; Leonardo, A.F.G. Involução dos folículos pós-ovulatórios em *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pisces, Teleostei). *Boletim do Instituto de Pesca*, v.31, n.2, p.129-135, 2005.

Santinón, J.J.; Hernández, D.R.; Sánchez, S. Domitrovic, H.A. Duração da larvicultura sobre o desempenho posterior de juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen*, recriados em tanques-rede. *Ciência Rural*, v.40, n.5, p.1180-1185, 2010.

Schmidt-Nielsen, K. 1996. *Fisiologia Animal - Adaptação e Meio Ambiente*. 5ª ed. São Paulo: Santos Editora. 600p

Schulz, R.W.; Vischer, H.F.; Cavaco, J.E.B.; Santos, E.M.; Tyler, C.R.; Goos, H.J.Th.; Bogerd, J. Gonadotropins, their receptors, and the regulation of testicular functions in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, v.129, p.407-417, 2001.

Schulz, R.W.; Menting, S.; Bogerd, J.; Franca, L.R.; Vilela, D.A.R.; Godinho, H.P. Sertoli cell proliferation in the adult testis: evidence from two fish species belonging to different orders. *Biology of Reproduction*, v.73, p.891-898, 2005.

Schulz, R.W.; França, L.R.; Lareyre, J.J.; LeGac, F.; Chiarini-Garcia, H.; Nobrega, R.H.; Miura, T. Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, p.390-411, 2010.

Severi, W. e Cordeiro, A.A.M. Catálogo de peixes da bacia do rio Iguaçu. IAP, 1994.

Signor, A.; Signor, A.A.; Feiden, A.; Boscolo, W.R.; Reidel, A.; Hayashi, C. Exigência de proteína bruta para alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*. *Revista Varia Scientia*, v.4, n.8, p.79-89, 2004.

Silfvergrip, A.M.C. A systematic revision of the Neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). In: Baumgartner, G.; Pavanelli, C. S.; Baumgartner, D.; Bifi, A. G.; Debona, T.; Frana, V. A. Peixes do baixo rio Iguaçu. Editora Eduem, p.203, 2012.

Sividanés, V.P. Decarli, J.A.; Feiden, A.; Boscolo, W.R.; Signor, A.; Signor, A.A.; Diemer, O. Desenvolvimento embrionário do jundiá *Rhamdia voulezi*. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, v.10, n.4, p.403-408, 2012.

Spadella, M.A.; Oliveira, C.; Quagio-Grassiotto, I. Comparative analysis of spermiogenesis and sperm ultrastructure in Callichthidae (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes). *Neotropical Ichthyology*, v.5, n.3, p.337-350, 2007.

Suwa, K. e Yamashita, M. Regulatory mechanisms of oocyte maturation and ovulation. In: Babin, P.J.; Cerdà, J.; Lubzens, E. (Eds.), *The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications*. Springer, Dordrecht, 2007. p.323-347.

Swarça, A. C.; Fenocchio, A. S.; Cestari, M. M.; Bertollo, L. A. C.; Dias, A. L. Heteromorphic sex chromosome system with an exceptionally large Y chromosome in a catfish *Steindachneridion* sp. (Pimelodidae). *Cytogenetic and Genome Research*. v.112, n.3-4, p.325-328, 2006.

Takahashi, E.L.H.; Gointein, R.; Nakaghi, L.S.O.; Maturidade do ovário no cascudo *Hypostomus strigaticeps* (Siluriformes, Loricariidae). *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, v.30, p.107-112, 2008.

Taranger, G.L.; Carrillo, M.; Shulz, R.W. et al. Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, p.483-515, 2010.

Tavares-Dias, M.; Melo, J.F.B.; Moraes, G.; Moraes, F.R. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Variáveis do Jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Ciência Rural*, v.32, n.4, p.693-698, 2002.

Tessaro, L.; Toledo, C.P.R.; Neumann, G.; Krause, R.A.; Meurer, F.; Natali, M.R.M.; Bombardelli, R.A. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase. *Aquaculture*, v.326-329, p.74-80, 2012.

Tyler, C.R.; Sumpterm J.; Bromage, N. In vivo ovarian uptake and processing of vitellogenin in the rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Journal of Experimental Zoology*, v.246, n.2, p.171-179, 1988.

Vazzoler, A.E.A.M. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem, p.196, 1996.

Wallace, R.A. e K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoology*, v.21, p.325-343, 1981.

Weltzien, F.A.; Andersson, A.; Shachian-Tabrizi, K.; Norberg, B. The brain-pituitary-gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (Pleuronectiformes). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, v.137, p.447-477, 2004.

Zaniboni Filho, E. e Weigartner, M. Técnica de indução da reprodução de peixes migradores. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.3, p.367-373, 2007.

Zawadzki, C.H.; Renesto, E.; Bini, L.M. Allozyme discrimination of three species of the genus *Hypostomus* Lace'pe`de, 1803 (Osteichthyes: Loricariidae) from the Rio Iguaçu basin (Brazil). *Revue Suisse Zoologie*, v.106, p.91-105, 1999.

Artigo será enviado a PLoS ONE

4. Capítulo. 2. - Desenvolvimento ovariano e testicular do *Rhamdia voulezi*, mantidos em tanque-rede

Resumo

Objetivou-se acompanhar as alterações estruturais dos ovários e testículos de *R. voulezi* durante primeira maturação, mantidos em tanque-rede. Utilizou-se 500 juvenis de *R. voulezi*, mensalmente foram capturados e eutanasiados, pesados, medidos e avaliadas as gônadas macro e microscopicamente. Foram calculados os índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), gordura celomática e fator de condição alométrico, somático e ΔK . As gônadas fixadas em solução de Bouin foram desidratadas, diafanizadas e emblocadas em paraplast. Os cortes de 5 μ m, corados pela técnica HE. Ovários em fase de desenvolvimento e apto a desova foram observados em exemplares com peso médio de 91,27 e 197,54 g, respectivamente, e testículos em fase de desenvolvimento e apto a desova em exemplares com peso médio de 78,61 e 152,90 g, respectivamente. As gônadas são estruturas pares alongadas localizadas dorsalmente na cavidade abdominal e fundidas na extremidade posterior formando o oviduto e ducto espermático. O desenvolvimento ovariano foi classificado nas fases imaturo, desenvolvimento (inicial, intermediária e final), apto a desova e regressão e desenvolvimento testicular nas fases imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma e regeneração. Fêmeas na fase apta a desova foram constatadas nos meses de dezembro a março, compatível a frequência percentual na fase, pico nos valores do IGS e ΔK . Os valores do índice ΔK e IGS apresentaram correlação positiva, indicando o deslocamento de energia para a reprodução.

Palavras-chave: Tanque-rede, Reprodução, Ovários, Testículos, Fator de condição

4.1. Introdução

O gênero *Rhamdia* encontra-se distribuído desde o México até o centro da Argentina (Nelson, 2006). Para o baixo rio Iguaçu, Baumgartner et al. (2012) descrevem a ocorrência de três espécies do gênero, *Rhamdia* sp., *R. branneri* e *R. voulezi*. Segundo os autores, *R. voulezi* difere das demais congêneres, sendo facilmente encontrada e de grande porte (>400mm) em relação as demais espécies da bacia, está caracterizada pelo seu alto grau de endemismo.

O aparelho reprodutor é constituído pelas gônadas e sistema endócrino. Este controla a atividade ovariana e testicular através do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (Murgas et al., 2009, Chen e Ge, 2011). Entretanto, os fatores abióticos modulam esse eixo, e sua implicação

no processo de desenvolvimento das gônadas é pouco conhecido (Bobe e Labbé, 2010; Taranger et al., 2010).

As observações externas permitem baixa confiabilidade no julgamento e classificação dos estádios de desenvolvimento gonadal. A histológica é uma importante ferramenta (Coward e Bromage, 1998) permitindo maior deliberação dos estádios e ciclo reprodutivo das espécies (Fávaro e Oliveira, 2012).

Em peixes, os estudos reprodutivos atendem diferentes propósitos, como a determinação do período reprodutivo, tipo e o local de desova, condições bióticas e abióticas apropriadas para a sobrevivência da prole, alterações na estratégia reprodutiva da espécie devido a mudanças no ambiente ou em áreas impactadas e aptidão zootécnica visando à produção comercial (Fávaro e Oliveira, 2012). Conhecer o desenvolvimento gonadal é fundamental para a compreensão do ciclo de vida dos peixes (Takahashi et al., 2008) e importante ferramenta na conservação, reposição dos estoques naturais (Ludwig et al., 2005) e produção de formas jovens destinadas a produção aquícola.

O presente trabalho objetivou descrever os estádios de desenvolvimento ovariano e testicular de *R. voulezi* mantidos em tanque-rede, por meio da análise macro e microscópica (histológica) e variação dos valores do índice gonadossomático, hepatossomático, gordura celomática e fator de condição ΔK .

4.2. Material e Métodos

Juvenis de *R. voulezi* com três meses de idade, peso e comprimento médio de $11,70 \pm 0,98\text{g}$ e $11,97 \pm 0,34\text{cm}$ respectivamente, foram estocados em tanque-rede de $4,5\text{ m}^3$ ($1,5 \times 1,5 \times 2,0$), totalizando 500 espécimes. O tanque-rede foi alocado na área aquícola do Centro de Difusão e Desenvolvimento de Tecnologias do rio Iguaçu (CDT Iguaçu), localizado no reservatório Governador José Richa, no município de Boa Vista da Aparecida, Paraná, Brasil. O período de estudo (coleta do material) seguiu de maio/2012 a abril/2013.

Os peixes foram arraçoados duas vezes ao dia até a saciedade aparente (08:30 e 17:00) com ração comercial extrusada contendo 30% de proteína bruta e 3.200 kcal de energia digestível por kg^{-1} de ração. As variáveis, oxigênio dissolvido, pH e temperatura da água foram aferidas duas vezes ao mês, com multiparâmetro YSI Professional Plus.

As coletas iniciaram após dois meses de adaptação dos animais ao sistema de cultivo e alimentação. Aleatoriamente, 10 espécimes foram capturados e eutanasiados em solução com benzocaína (Gomes et al., 2001) e verificado a proporção entre machos e fêmeas, estabelecida em no mínimo três animais para cada sexo. Os indivíduos coletados foram pesados em

balança semi-análitica e medidos (comprimento total). Posteriormente, uma incisão ventral no sentido caudal-cefálico foi realizada para avaliação macroscópica quanto ao tamanho, formato e coloração das gônadas, e fotografadas.

O peso das gônadas, fígado e gordura celomática, foram aferidos para o cálculo do índice gonadossomático (IGS) (peso da gônada / peso do peixe x 100), hepatossomático (IHS) (peso do fígado / peso do peixe x 100) e gordura celomática (IGS) (peso da gordura celomática / peso do peixe x 100), também foi determinado o fator de condição alométrico $[(K=W_t/L_t^b)]$, onde W_t = peso do peixe e L_t = comprimento do peixe] e somático $[(K'=W_c/L_t^b)]$, onde $W_c= W_t-W_g$, W_g = peso da gônada] para posterior cálculo do fator de condição $\Delta K (K-K')$. O valor de 'b' para o cálculo dos fatores de condição e tipo de crescimento, foi obtido através do coeficiente angular da regressão entre W_t/L_t segundo preconizado por Le Cren (1951).

Para análise histológica, as gônadas foram retiradas, fixadas em Bouin (75ml ácido pícrico saturado, 25ml formol PA e 5ml ácido acético glacial) por 24 horas e posteriormente uma amostra da região medial do lado direito foi coletada, desidratada em serie alcoólica crescente, diafanizada em xilol e realizada a inclusão em paraplast®. Os cortes foram obtidos em micrótomo rotativo (5µm), a coloração realizada pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e as fotomicrografias obtidas em escâner de lâminas. Para determinar a escala de maturação, as lâminas foram analisadas com auxílio de microscopia de luz e fases de maturação gonadal classificados segundo escala proposta por Brown-Peterson et al. (2011).

Para os parâmetros reprodutivos avaliados, foram considerados somente os espécimes que tiveram as gônadas submetidas à histologia, totalizando 117 exemplares, 65 fêmeas e 52 machos.

Os dados foram analisados no programa Statistic 7.1 (Statsoft, 2005). Os valores mensais de IGS e ΔK foram submetidos aos testes de Levene e análise de variância (ANOVA), caso verificado diferença estatística, aplicado o teste de Tukey a 5% de significância. A correlação de Spearman foi aplicada para correlacionar os dados de temperatura, peso da gônada, IGS, IHS, IGC e fator de condição ΔK .

4.3. Resultados e Discussão

Os valores abióticos como temperatura da água, pH e oxigênio dissolvido (Figura 8) permaneceram dentro dos valores descritos para o gênero *Rhamdia* (Baldisserotto e Radünz Neto, 2005) e próximos aos valores descritos por Reidel et al. (2010), Coldebella et al. (2011) e Tessaro et al. (2012). Os valores de temperatura foram os que apresentaram maior variação no período, apresentado uma correlação positiva (0,86 para fêmeas e 0,81 para machos) com o

IGS, corroborando com Ghiraldelli et al. (2007), aonde os valores de IGS e período reprodutivo tendem acompanhar o aumento da temperatura da água.

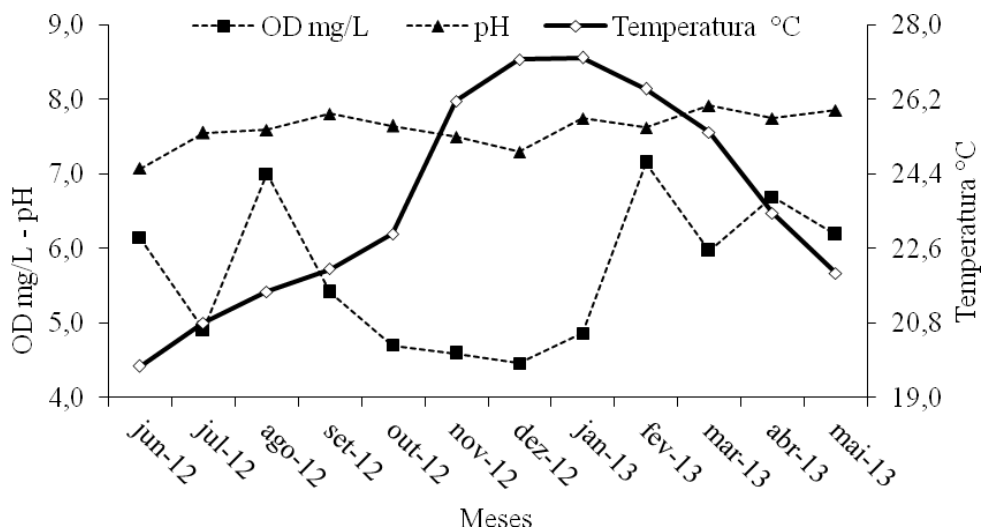


Figura 8. Variação mensal das variáveis abióticas da água no entorno do tanque-rede.

Os fatores abióticos estão diretamente envolvidos na reprodução, modulando o eixo hipotálamo-hipófise-gonadas quanto a produção e liberação dos hormônios envolvidos no desenvolvimento gonadal (Bobe e Labbé, 2010; Taranger et al., 2010), e influenciando o período de desova para o momento mais favorável a sobrevivência da prole, época com grande abundância de alimento e maior proteção contra predadores (Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007).

Fêmeas de *R. voulezi* apresentaram médias de peso entre 37,01 e 307,01 g e comprimento total entre 15,3 e 30,7 cm, e os machos, peso entre 33,10 e 291,70 g e comprimento total entre 16,4 e 30,7 cm (Tabela 1). Fêmeas com peso médio superior aos machos são descritos em espécie do gênero (Ghiraldelli et al., 2007; Fracalossi et al., 2004) com maturidade reprodutiva por volta de um ano de vida nos dois sexos, fêmeas medindo 16,5 cm e machos 13,4 cm em viveiro escavado de terra (Gomes et al., 2000; Baldisserotto e Radünz Neto, 2005).

Tabela 1. Intervalo de peso e comprimento total de fêmeas e machos para o período de coleta e média seguida do desvio padrão para peso e comprimento total de fêmeas e machos em diferentes fases de desenvolvimento ovariano e testicular.

Período	Peso (g)		Comprimento total (cm)		Número de peixes	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Intervalo (mínimo-máximo)	37,01-307,01	33,10-291,70	15,30-30,70	16,40-30,70	65	52
Imaturo	87,52±46,54	73,65±24,40	20,30±2,65	19,15±1,63	18	2
Desenvolvimento	-	78,61±38,86	-	19,21±2,32	-	14
Desenvolvimento inicial	91,27±46,37	-	18,06±1,46	-	9	-
Desenvolvimento intermediário	150,67±49,24	-	25,10±3,59	-	3	-
Desenvolvimento final	122,47±20,08	-	22,02±2,12	-	3	-
Apto a desova/ liberar esperma	197,54±57,51	152,90±47,57	26,02±2,99	24,83±2,43	32	34
Regressão	171,05±31,56	-	25,10±3,90	-	5	-
Regeneração	-	153,65±2,62	-	26,45±0,07	-	2

Os ovários são estruturas pares alongadas com formato ovóide ligada a parede dorsal da região da cavidade celomática pelo mesovário, dorsalmente ao intestino e fundidas na extremidade posterior formando o oviduto que se abre no poro urogenital posterior ao ânus (Ganeco et al., 2001; Ghiraldelli et al., 2007). O tamanho, peso e coloração variam de acordo com o estágio de desenvolvimento gonadal (Ganeco et al., 2001). Em *R. voulezi* verificou o mesmo padrão de estrutura, com variação no tamanho, coloração e aspecto, de transparente e tamanho reduzido em ovários imaturos, amarelado e ocupando grande parte da cavidade celomática em fêmeas com ovários aptos a desova e escuros e flácidos em ovários em regressão (Figura 9).

Em Siluriformes, incluindo a família Heptapteridae, os testículos apresentam semelhanças (Batlouni et al., 2006). Pela análise macroscópica (Figura 10), os testículos de *R. voulezi* são estruturas pares, localizadas dorsalmente na cavidade abdominal, fundidos na extremidade posterior formando o ducto espermático que se abre externamente no poro urogenital, presença de projeções digitiformes em toda a sua extensão, variando de tamanho e

coloração, de transparente em indivíduos imaturos a brancos em indivíduos em desenvolvimento e apto a desova ao decorrer do desenvolvimento das células espermáticas, características semelhantes descritas em espécies do gênero (Ghiraldelli et al., 2007; Reidel et al., 2010; Tessaro et al., 2012).

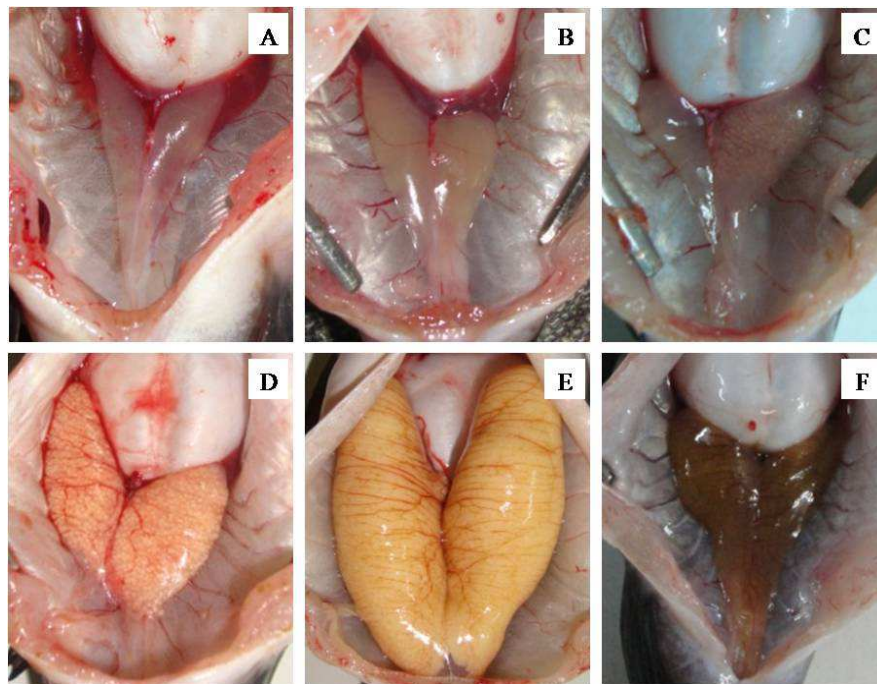


Figura 9. Características macroscópicas dos ovários de *Rhamdia voulezi*. Fases do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento inicial (B), desenvolvimento intermediário (C), desenvolvimento final (D), apto a desova (E) e regressão (F).

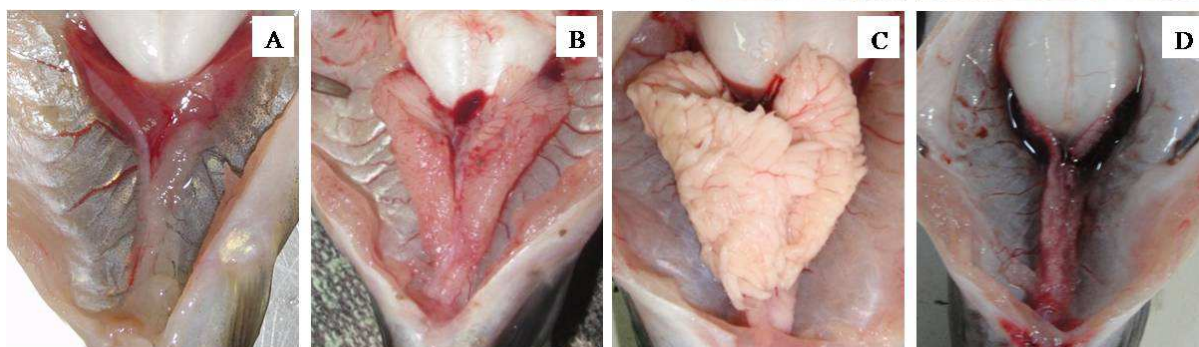


Figura 10. Características macroscópicas dos testículos de *Rhamdia voulezi*. Fase do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento (B), apto a liberar esperma (C) e regeneração (D).

O desenvolvimento gonadal pode ser classificado em estádios (fases), facilitando, dessa forma, o entendimento do ciclo reprodutivo (Ganeco et al., 2001). Para *R. voulezi*, por meio das características macro e microscópicas, estabeleceram-se quatro fases de

desenvolvimento ovariano (Tabela 2) sendo: imaturo, desenvolvimento (subfases: desenvolvimento inicial, desenvolvimento intermediária e desenvolvimento final), apto a desova e regressão, e para desenvolvimento testicular (Tabela. 3): imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma e regeneração.

Tabela 2. Fases de maturação dos ovários de *Rhamdia voulezi* mantido em tanque-rede.

Fases	Figura	Características microscópicas
Imaturo	11-A e B	Lamelas ovulíferas organizadas, contendo ovogônias e ovócitos em crescimento primário (PG).
Desenvolvimento inicial	11-C	Número reduzido de ovócitos Vgt1 com vesículas citoplasmáticas de tamanho reduzido e pequenos grânulos de vitelo.
Desenvolvimento intermediário	11-D	Ocorrência de ovócitos Vgt1 e Vgt2 com inserção de grânulos de vitelo em toda a região citoplasmática.
Desenvolvimento final	11-E	Ovócitos Vgt3 com inclusão de grânulos de vitelo basicamente concluída, apresenta de ovócitos Vgt1, Vgt2 em diferentes níveis de inclusão de grânulos de vitelo.
Apto a desova	11-F	Ovócitos PG e Vgt3 com grânulos de vitelo ocupando praticamente toda a área citoplasmática com células foliculares alongadas.
Regressão	11-G	Lamelas ovulíferas com aspecto desorganizado com ovócitos A e PG

Ovócito crescimento primário (PG); ovócito vitelogênico primário (Vgt1); ovócito vitelogênico secundário (Vgt2); ovócito vitelogênico terciário (Vgt3); ovócito atresico (A).

Tabela 3. Fases de maturação dos testículos de *Rhamdia voulezi* mantidos em tanque-rede.

Estádio	Figura	Características microscópicas
Imaturo	12-A	Presença de Sg indiferenciadas no epitélio dos túbulos germinativos
Desenvolvimento	12-B	Túbulos seminíferos com cistos e diferentes células da linhagem espermática (diferenciação por meiose), cada cisto apresentando células da mesma linhagem. Células da linhagem espermática: espermatócitos, espermátides e Sz. Observa-se a presença de espermatogônias em número reduzido.
Apto a liberar esperma	12-C	Predomínio de Sz com número reduzido de espermatogônias, espermatócitos e espermátides.
Regeneração	12-D	Ausência de Sz e túbulos seminíferos delimitados, envolvidos por espessa camada de tecido conjuntivo.

Espermatogônia (Sg); espermatozoide (Sz).

As alterações no processo de ovogênese em *R. voulezi* foram gradativas e permanentes. O desenvolvimento das células da linhagem espermática para a espécie foi cística com células espermáticas na mesma fase de desenvolvimento distribuídas no tecido espermático.

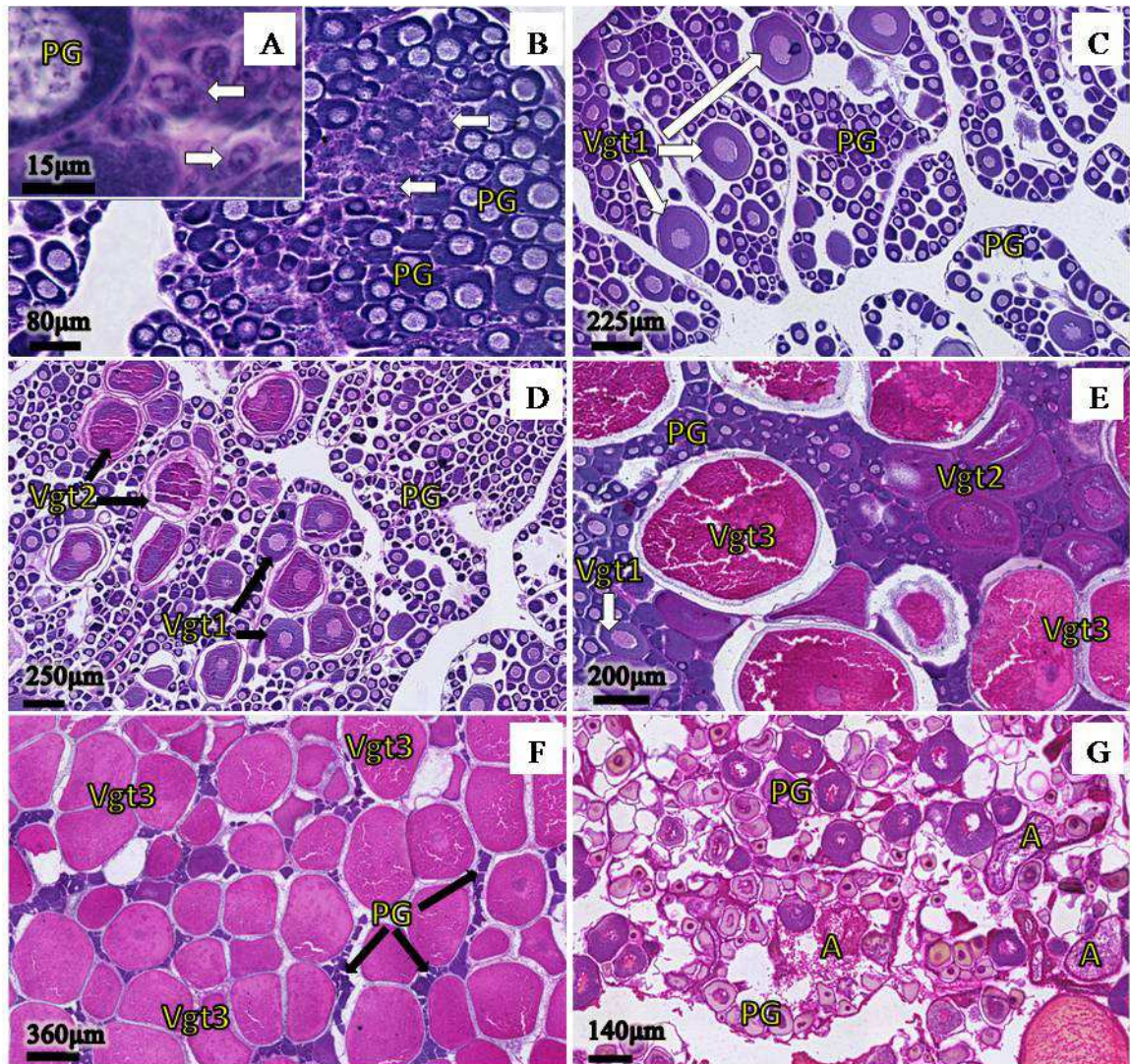


Figura 11. Cortes histológicos de ovários de *Rhamdia voulezi* mantidos em tanque-rede (corados em HE). A, B) Ovários na fase imatura, presença de ovogônias (seta branca) e folículos ovarianos perinucleolares (PG). C, D e E) Ovários na fase de desenvolvimento nas subfases inicial, intermediária e final, respectivamente, com folículos ovarianos perinucleolares (PG) e ovócitos vitelogênicos em desenvolvimento primário (Vgt1), secundário (Vgt2) e terciário (Vgt3); F) Ovários aptos a desova com predomínio de ovócitos vitelogênicos terciários (Vgt3) e folículos ovarianos perinucleolares (PG); G) Ovários em fase de regressão com ovócitos atresícos (A) e folículos ovarianos perinucleolar (PG).

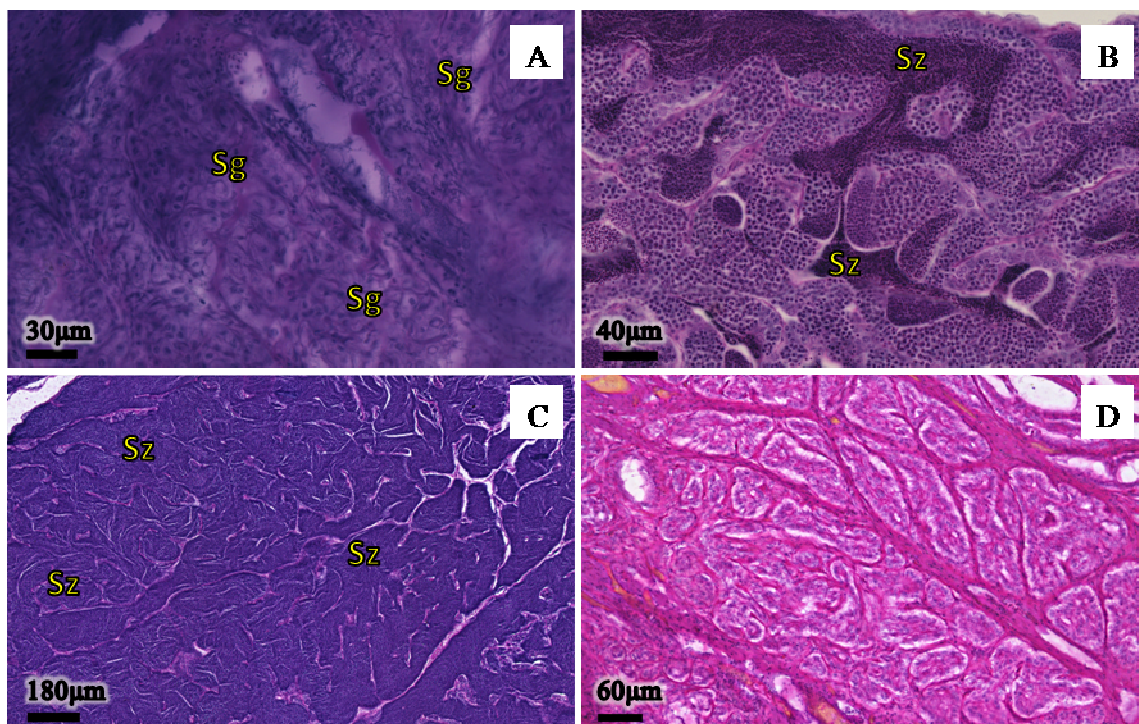


Figura 12. Cortes histológicos de testículos de *Rhamdia voulezi* mantidos em tanque-rede (corados em HE). A) Testículos em fase imatura com espermatogônias (Sg); B) Testículos em fase de desenvolvimento contendo diferentes células da linhagem espermática e espermatozoides (Sz); C) Testículos aptos a liberar esperma com predomínio de espermatozoides (Sz); D) Testículos em fase de regeneração, ausência de espermatozoides.

O desenvolvimento ovariano é caracterizado pela vitelogênese (Blythe et al., 1994) mediada pelas gonadotrofinas pituitárias, FSH (hormônio folículo-estimulante) e LH (hormônio luteinizante) (Lubzens et al., 2010), resultando na liberação de estradiol pelas células da granulosa (Mylonas et al., 2010), estimulando a produção de vitelogenina (Matsubara e Sawano, 1995) pelos hepatócitos no fígado (Wallace e Selman, 1981) e posterior incorporação nos ovócitos (Jalabert, 2005; Lubzens et al., 2010). Posteriormente ocorre o aparecimento dos folículos pós-ovulatórios que são reabsorvidos (Drummond et al., 2000). É possível observar, após 24 horas, o processo de degeneração, com o tecido pós-ovulatório vacuolizado em *Pseudoplatystoma fasciatum* (Romagosa et al., 2005).

A degeneração dos ovócitos, ou atresia folicular pode ocorrer antes e após a desova (Ganeco et al., 2001), acontecendo principalmente, em fêmeas mantidas em cativeiro (Mañanos et al., 2009). Segundo Fávaro e Oliveira (2012) sua ocorrência é considerada normal quando em baixas frequências e facilmente visualizada em folículos vitelogênicos.

Em machos, a espermatogênese (Nóbrega et al., 2009; Weltzien et al., 2004) inicia-se com a proliferação das células testiculares e diferenciação até se tornarem espermatozoides

maduros haplóides (Planas e Swanson, 2008). Como em fêmeas, a regulação ocorre pela ação dos hormônios da hipófise (FSH e LH), esteróides sexuais e fatores de crescimento produzidos nos próprios testículos, caracterizado por três fases, mitótica com a proliferação de diferentes espermatogônias indiferenciadas, meiose com a presença de espermatócitos primários e secundários, e fase da espermiogênese e diferenciação (Schulz et al., 2010).

Os valores do IGS mensal variaram significativamente entre os meses de coleta para ambos os sexos. Nas fêmeas, os valores foram superiores entre os meses de dezembro a março (Figura 13-A), período com as maiores temperaturas da água e fêmeas aptas a desova (Figura 14-A e B). Os menores valores foram verificados nos meses de junho e julho, com fêmeas apresentando ovários na fase imatura. Após o pico, os valores de IGS caíram nos meses de abril e maio, com fêmeas em fase de regressão. Nos machos, os valores do IGS foram superiores entre os meses de outubro a abril, exceto para o mês de março (Figura 13-B), no entanto, todos os indivíduos analisados neste período encontravam-se aptos a liberar esperma (Figura 14-C). Os valores mensais do IGS e a classificação do desenvolvimento ovocitário e espermático pela histologia permitem determinar o período reprodutivo, fundamental para a compreensão do ciclo de vida e reprodutivo dos peixes (Takahashi et al., 2008) e sua manipulação uma importante ferramenta na conservação, reposição dos estoques naturais (Ludwig et al., 2005).

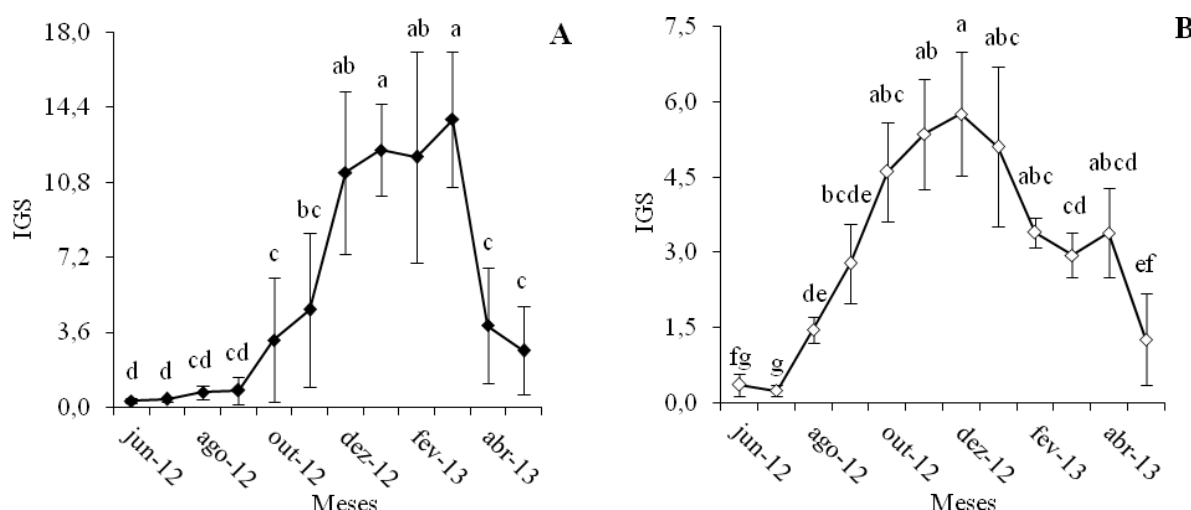


Figura 13. Índice gonadosomático médio mensal (IGS) seguido do desvio padrão (barras) para *Rhamdia voulezi* mantidos em tanque-rede. Fêmeas (A) e Machos (B). Letras diferentes indicam significância a 5%.

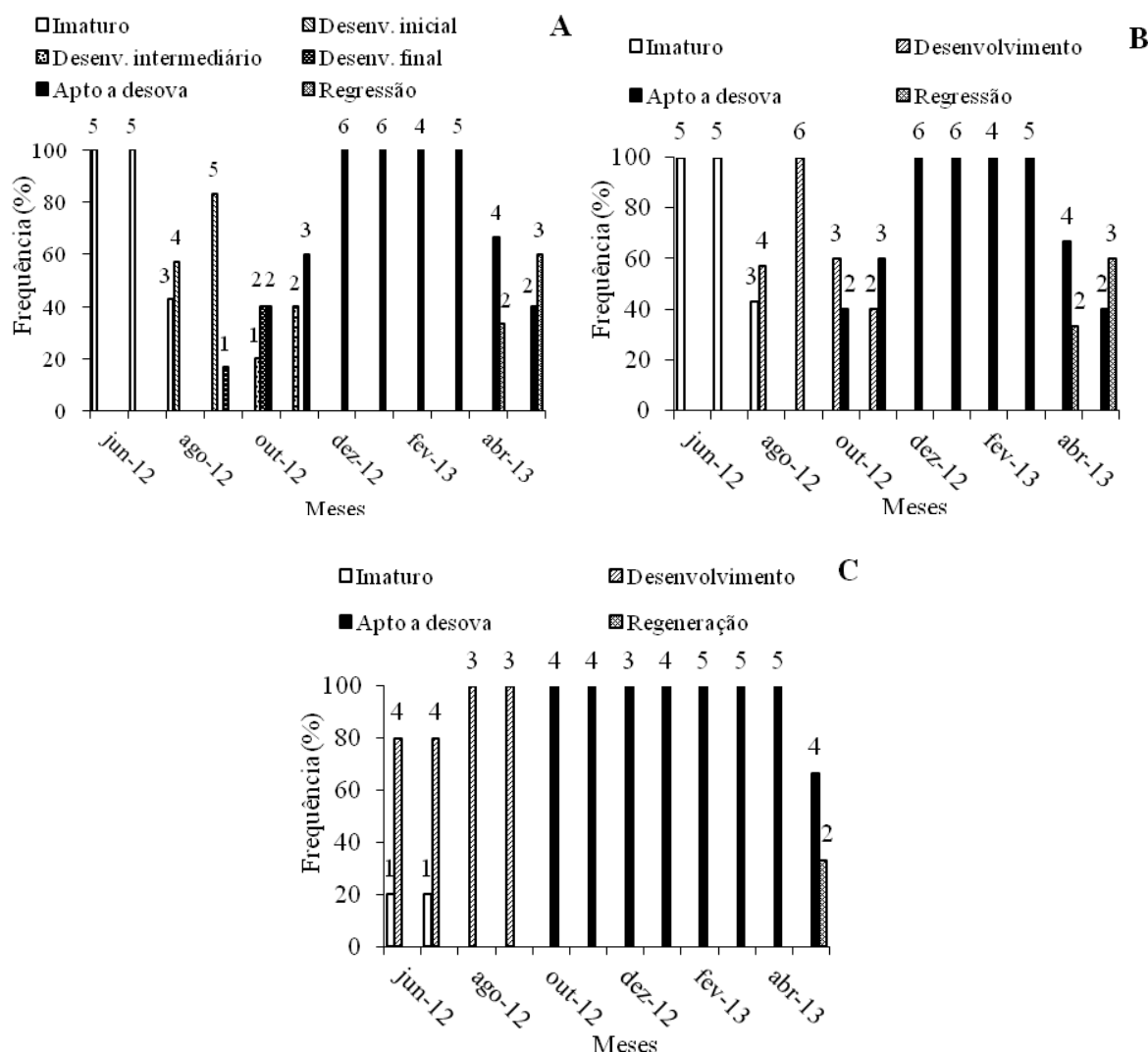


Figura 14. Frequência percentual (%) mensal das fases e subfases de desenvolvimento gonadal do *Rhamdia voulezi* mantidos em tanque-rede. A) Fêmeas com a fase de desenvolvimento separada em subfases; B) Fêmeas com a fase de desenvolvimento agrupada; C) Machos. Número acima das barras indica à frequência absoluta.

Segundo Gomes et al. (2000) o período reprodutivo e os maiores valores de IGS em ambiente natural variam amplamente (local e ano). Barcellos et al. (2001) observaram picos de IGS nos meses de outubro, dezembro e abril em *R. quelen* mantidos em tanques de 100 m². Período reprodutivo maior foi verificado por Ghiraldelli et al. (2007) em *R. quelen* mantidos em viveiros de terra, de acordo com os valores do IGS, verificaram período reprodutivo no verão (dezembro e janeiro), outono (abril e maio) e primavera (setembro e outubro). Em fêmeas de *R. quelen* mantidas em tanque-rede (5,0 m⁻³) e recebendo uma dieta com 3.350 kcal/g de energia digestível e 35% de proteína bruta, Reidel et al. (2010) verificaram quatro picos de IGS nos meses de junho, setembro, outubro e novembro. Para os parâmetros

seminais, Tessaro et al. (2012) verificaram melhores índices nos meses de novembro e dezembro em *R. quelen* estocados em tanques de 16 m² sobre condições naturais de temperatura e fotoperíodo.

O distanciamento entre o fator de condição K e K' expressado por ΔK , corrobora com os valores do IGS e estádios do desenvolvimento ovariano (dezembro a março) (Figura 15-A) e testicular (setembro a abril) (Figura 15-B). A diferença sazonal entre o fator de condição alométrico e somático é uma ferramenta para avaliar a atividade reprodutiva de peixes (Vazzoler, 1996; Gomiero e Braga, 2006), pois expressa, de modo relativo, a parcela das reservas do animal transferida para as gônadas (Vazzoler, 1996). Essa abordagem foi empregada e confirmada por Gomiero e Braga (2006), Silva et al. (2010) e Oliveira e Fávoro (2011), com diferentes espécies e ambientes distintos. No mês de setembro houve um aumento nos valores de fator de condição K e K' em ambos os sexos, segundo Botelho et al. (2007) o aumento nos valores são explicados pela maior intensidade alimentar com subsequente acúmulo de gordura mantendo e elevando a higidez dos peixes.

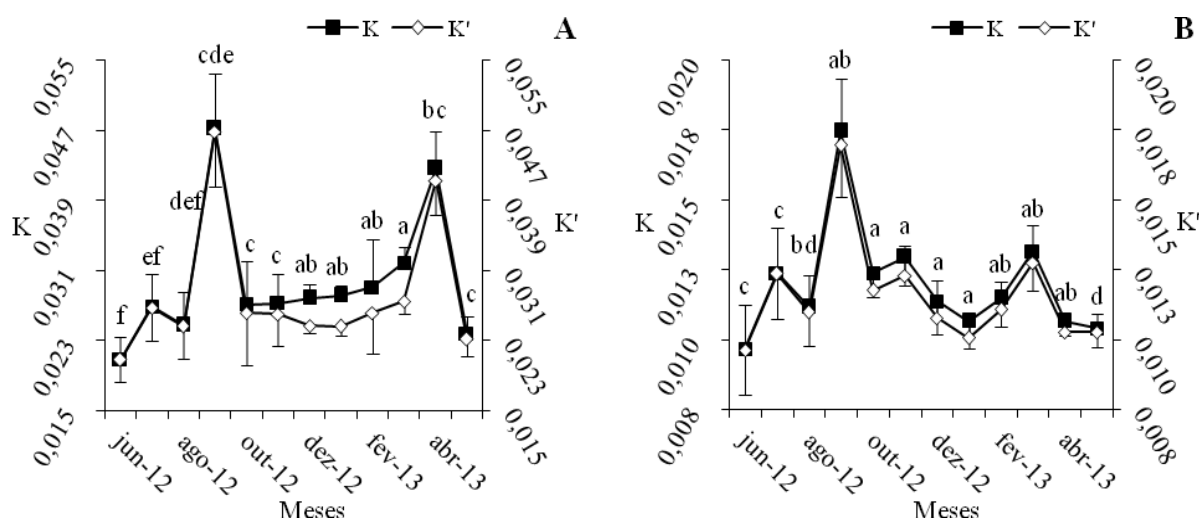


Figura 15. Valores médios mensais do fator de condição alométrico (K) e fator de condição somático (K') para *Rhamdia voulezi* mantidos em tanque-rede. Letras diferentes indicam significância a 5% para os valores de ΔK (correspondendo ao distanciamento entre o fator de condição K e K') e barras indicam o desvio padrão para fator de condição K e K'. A) fêmeas; B) machos.

Para correlação de Spearman (Tabela 4), o peso das gônadas, IGS e ΔK apresentam alta correlação com a temperatura da água em ambos os sexos, explicado pela atividade reprodutiva (vitelogênese e espermatogênese) ocorrer gradualmente devido à elevação desse

parâmetro (Ghiraldelli et al., 2007), corroborando com Oliveira e Fávaro (2011) que encontraram correlações positivas entre fatores ambientais e parâmetros reprodutivos. Para os valores de IGS e IGC a correlação foi negativa nas fêmeas e não significativa para machos.

Entre os valores do IGS e IHS os machos apresentaram correlação negativa e as fêmeas correlação não significativa. Segundo Costa et al. (2005) nas fêmeas o catabolismo das reservas lipídicas pode ser destinado a vitelogênese, encontrando correlação negativa entre IHS e IGC. A redução nos valores de IHS pode estar associada à síntese e secreção de substâncias pelo fígado para formação do vitelo (Bazzoli et al., 1998) causando redução nas reservas orgânicas (Agostinho et al., 1990) no período de maturação das gônadas sobretudo na maturação ovariana (Bazzoli et al., 1998).

Tabela 4. Correlação de Spearman entre temperatura da água (Temp.), comprimento (Comp.), peso do peixe (Pt), peso das gônadas (Pg), índice gonadosomático (IGS), índice víscerosomático (IVS), índice hepatossomático (IHS), índice gordura celomática (IGC) e ΔK (diferencial entre o fator de condição alométrico e somático) para *Rhamdia voulezi* mantidos em tanque-rede, fêmeas (itálico) e machos (negrito). Somente são apresentados os valores de correlação com significância ($p < 0,05$).

	Temp.	Comp.	Pt	Pg	IGS	IHS	IGC	ΔK
Temp.	-	0,62	0,65	0,86	0,84	-0,25		0,84
Comp.	0,41	-	0,89	0,75	0,58	-0,27	-0,29	0,56
Pt	0,39	0,94	-	0,77	0,57	-0,32	-0,27	0,62
Pg	0,76	0,63	0,67	-	0,95		-0,42	0,96
IGS	0,81	0,29	0,30	0,86	-		-0,43	0,98
IHS	-0,35	-0,41	-0,31	-0,43	-0,41	-		
IGC			0,35				-	-0,42
ΔK	0,74		0,30	0,84	0,96	0,32		-

4.4. Conclusão

Fêmeas e machos de *R. voulezi*, mantidos em tanque-rede apresentaram diferenciação das células ovarianas e testiculares no início do inverno com sete e cinco meses de idade e peso médio de $91,27 \pm 46,37$ g e $78,61 \pm 38,86$ g, respectivamente. As gônadas são estruturas pares alongadas localizadas dorsalmente na cavidade abdominal e fundidas na extremidade posterior formando o oviduto nos ovários e ducto espermático nos testículos. Através da análise microscópica, o desenvolvimento ovariano foi classificado nas fases imaturo,

desenvolvimento (inicial, intermediária e final), apto a desova e regressão e testicular nas fases imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma e regeneração. A correlação positiva entre os valores do IGS e índice ΔK , validam a utilização do índice como referência do início da vitelogênese e espermatogênese, indicando o deslocamento de energia para a reprodução. Nos meses de dezembro a março foi verificada fêmeas na fase apta a desova, compatível a frequência percentual (100%) na fase e pico nos valores do IGS e ΔK .

4.5. Referências

Agostinho, A.A.; Barbieri, G.; Verani, J.R.; Hahn, N.S. Variação do fator de condição e do índice hepatossômico e suas relações com o ciclo reprodutivo em *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricariidae) no Rio Paranapanema, Porecatu. Ciência e Cultura, v.42, p.711-714, 1990.

Baldisserotto, B e Radünz Neto, J. Jundiá (*Rhamdia* sp.) In: Baldisserotto, B. e Gomes, L. C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria, Ed da UFSM, 2005. p.303-319.

Barcellos, L.J.G.; Wassermann, G.F; Scott, A.P.; Woehl, V.M.; Quevedo, R.M.; Itzès, I.; Krieger, M.H.; Lulher, F. Steroid profiles in cultured female jundia, the siluridae *Rhamdia quelen* (Guoy and Gaimard, Pisces Teleostei), during the first reproductive cycle. General and Comparative Endocrinology, v.121, n.3, p.325-332, 2001.

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

Baumgartner, G.; Pavanelli, C.S.; Baumgartner, D.; Bifi, A.G.; Debona, T.; Frana, V.A. Peixes do baixo rio Iguaçu. Editora Eduem, 2012. 203p.

Bazzoli, N.; Mesquita, T.L.; Santos, G.B.; Rizzo, E. Análise comparativa da reprodução de *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Characidae) nos Reservatórios de Furnas, Marimbondo e Itumbiara. Bios, v.6, p.99-112, 1998.

Blythe, W.G.; Helfrich, L.A.; Sullivan, C.V. Sex steroid hormone and vitellogenin levels in striped Bass (*Morone saxatilis*) maturing under 6-, 9-, and 12-month photothermal cycles. *General and Comparative Endocrinology*, v.94, p.122-134, 1994.

Bobé J. e Labbé, C. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, .535-548, 2010.

Brown-Peterson, N. J.; Wyanski, D. M.; Saborido-Rey, F.; Maceicz, B. J.; Lowerre-Barbieri, S. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*, v.3, p.52-70, 2011.

Chen, W. e Ge, W. Ontogenic expression profiles of gonadotropins (*fshd* and *ihb*) and growth hormone (*gh*) during sexual differentiation and puberty anset in female. *Biology of Reproduction*. v.86, n.3, p.1-11, 2011.

Coldebella, I. J.; Radünz Neto, J.; Mallmann, C.A.; Veiverberg, C.A.; Bergamin, G.T.; Pedron, F.A.; Ferreira, D.; Barcellos, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. *Aquaculture*, v.312, p.137-144, 2011.

Costa, A.P.R.; Andrade, D.R.; Vidal Junior, M.V.; Souza, G. Indicadores quantitativos da biologia reprodutiva de fêmeas de piau-vermelho no Rio Paraíba do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, n.8, p.789-795, 2005.

Coward, K e Bromage, N.R. Histological classification of oocyte growth and the dynamics of ovarian recrudescence in *Tilapia zillii*. *Journal of Fish Biology*, v.53, p.285-302, 1998.

Drummond, C.D.; Bazzoli, N.; Rizzo, E. Postovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. *Journal of Experimental Zoology*, v.287, p.176-182, 2000.

Fávaro, L. F. e Oliveira, E. C. Ecologia reprodutiva em peixes. In: Ribeiro, C. A. O.; Reis Filho, H. S.; Grötzner, S. R. Técnicas e métodos para utilização prática em microscopia. São Paulo, editora Santos, p.422, 2012.

Fracalossi, D.M.; Meyer, G.; Santamaria, F.M.; Weingartner, M.; Zaniboni-Filho, E. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v.26, n., p.345-352, 2004.

Ganeco, L.N.; Nakaghi, L.S.O.; Urbinati, E.C.; Dumont-Neto, R.; Vasques, L.H. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba, *Brycon orbinyanus*, durante o ciclo reprodutivo. *Boletim do Instituto de Pesca*, v.27, n.2, p.131-138, 2001.

Ghiraldelli, L.; Machado, C.; Fracalossi, D.M.; Zaniboni Filho, E. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, v.29, n.4, p.349-356, 2007.

Gomes, L.C.; Golombieski, J.I.; Gomes, A.R.C.; Baldisserotto, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). *Ciência Rural*, v.30, n.1, p.179-185, 2000.

Gomiero, L.M. e Braga, F.M.S. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Brycon opalinus* (Pisces: Characiformes) no Parque Estadual da Serra do Mar-Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v.28, n.2, p.135-141, 2006.

Jalabert, B. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reproduction Nutrition Development*, v.45, p.261-279, 2005.

Le Cren, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology*, v.20, n.2, p.201-219, 1951.

Lubzens, E.; Young, G.; Bode, J.; Cerdà, L. Oogenesis in teleostes: How fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, p.367-389, 2010.

Ludwig, L. A. M.; Gomes, E.; Artoni, R. F. Um método de reprodução induzida para o surubim *Steindachneridion melanoderdatum* (Siluriformes, Pimelodidae) do rio Iguaçu. *Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde*, v.11, n.3, 2005.

Mañanos, E.; Duncan, N.; Mylonas, C. Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: Cabrita, E.; Robles, V.; Herráez, P. Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species. Boca Raton: CRC Press, 2009. 549p.

Matsubara, T. e Sawano, K. Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). Journal of Experimental Zoology, v.272, n.1, p.34-45, 1995.

Murgas, L.D.S.; Brumond, M.M.; Pereira, G.J.M.; Felizardo, V.O. Manipulação do ciclo e da eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. Revista Brasileira da Reprodução Animal, Suplemento, n.6, p.70-76, 2009.

Mylonas, C.C.; Fostier, A.; Zanuy, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology, v.165, p.516-534, 2010.

Nelson, J. S. Fishes of the world. ed.4, New York, 2006. 601p.

Oliveira, E.C. e Fávaro, L.F. Reproductive biology of the flatfish *Etropus crossotus* (Pleuronectiformes:Paralichthyidae) in the Paranaguá Estuarine Complex, Paraná State, subtropical region of Brazil. Neotropical Ichthyology, n.9, v.4, p.795-805, 2011.

Planas, J.V. e Swanson, P. Physiological Function of Gonadotropins in Fish. In: Rocha, M.J.; Arukwe, A.; Kapoor, B.G. Fish Reproduction Science Publishes, 2008. p.37-66

Reidel, A.; Boscolo, W.R.; Feiden, A.; Romagosa, E. The effect of diets with different levels of protein and energy on the process of final maturation of the gametes of *Rhamdia quelen* stocked in cages. Aquaculture, v.298, p.354-359, 2010.

Romagosa, E.; Batlouni, S.R.; Borella, M.I.; Leonardo, A.F.G. Involução dos folículos pós-ovulatórios em *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pisces, Teleostei). Boletim do Instituto de Pesca, v.31, n.2, p.129-135, 2005.

Schulz, R.W.; Vischer, H.F.; Cavaco, J.E.B.; Santos, E.M.; Tyler, C.R.; Goos, H.J.Th.; Bogerd, J. Gonadotropins, their receptors, and the regulation of testicular functions in fish, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. v.129, p.407-417, 2001.

Schulz, R.W.; França, L.R.; Lareyre, J.J.; LeGac, F.; Chiarini-Carcia, H.; Nobrega, R.H.; Miura, T. Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, p.390-411, 2010.

Silva, J.P.A.; Muelbert, A.E.; Oliveira, E.C.; Fávaro, L.F. Reproductive tactics used by the Lambari *Astyanax aff. fasciatus* in three water supply reservoirs in the same geographic region of the upper Iguaçu River. *Neotropical Ichthyology*, v.8, n.4, p.885-892, 2010.

Takahashi, E.L.H.; Gointein, R.; Nakaghi, L.S.O.; Maturidade do ovário no cascudo *Hypostomus strigaticeps* (Siluriformes, Loricariidae), *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v.30, p.107-112, 2008.

Taranger, G.L.; Carrillo, M.; Schulz, R.W.; Fontaine, P.; Zanuy, S.; Felip, A.; Weltzien, F.A.; Dufour, S.; Karlsen, Ø.; Norberg, B.; Andersson, E.; Hansen, T. Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology*. v.165, p.483-515, 2010.

Tessaro, L.; Toledo, C.P.R.; Neumann, G.; Krause, R.A.; Meurer, F.; Natali, M.R.M.; Bombardelli, R.A. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase. *Aquaculture*, v.326-329, p.74-80, 2012.

Vazzoler, A.E.A.M. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem, p.196, 1996.

Wallace, R.A. e K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoology*, v.21, p.325-343, 1981.

Zaniboni Filho, E. e Weigartner, M. Técnica de indução da reprodução de peixes migradores. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.3, p.367-373, 2007.

5. Capítulo. 3. - Desenvolvimento ovariano e testicular de *Steindachneridion melanoderdatum* estocados em viveiro escavado de terra e tanque-rede

Resumo

O desenvolvimento ovariano e testicular de *Steindachneridion melanoderdatum* foi descrito através de análise macro e microscópica de ovários e testículos de peixes mantidos em dois sistemas de criação, viveiro escavado de terra e tanque-rede. Para tanto, utilizou-se 170 peixes com quatro anos de idade, peso (g) e comprimento (cm) médio de 799,06 e 44,23 respectivamente. Bimestralmente, foram capturados e uma incisão ventral foi realizada para avaliação macroscópica e mensuração dos índices gonadosomático (IGS), hepatossomático (IHS), gordura celomática (IGC) e fator de condição alométrico, somático e ΔK . As gônadas foram coletadas e fixadas em solução de Bouin, incluídas em paraplast, os cortes obtidos em 5 μ m e corados pela técnica HE. Os valores da temperatura média no período de coleta em VE e TR foram de 22,6 e 24,0 °C, respectivamente. Os exemplares coletados em VE apresentaram os maiores valores de peso e comprimento médio no período de coleta, 1069,2 e 827,2g para fêmeas e machos, respectivamente. Pela análise macro e microscópica dos ovários e testículos foram determinadas quatro fases de desenvolvimento gonadal, não verificando diferenças no desenvolvimento dos ovários e testículos nos animais mantidos em VE ou TR, sendo as fases: Imaturo, desenvolvimento, apto a desova/liberar esperma e regeneração. Fêmeas e machos aptos à desova e aptos a liberar esperma foram coletados nos meses de outubro e dezembro e também fevereiro para fêmeas em VE. Os maiores valores do IGS ocorreram nos meses de outubro e dezembro, no entanto não diferiam estatisticamente entre VE e TR, exceto para fêmeas VE em junho/agosto, no mesmo período também foi verificado os maiores valores de ΔK , podendo este, ser utilizado como indicador de período reprodutivo. Em testículos evidenciou-se a presença de folículos ovarianos perinucleolares ou em crescimento primário, caracterizando ocasional hermafroditismo na espécie.

Palavras-chave: reprodução, ovários, testículos, IGS, fator de condição

5.1. Introdução

O gênero *Steindachneridion* (Eigenmann e Eigenmann, 1919) apresenta seis espécies, entre elas, o *S. melanoderdatum* (Garavello, 2005) endêmico do rio Iguaçu, Paraná, Brasil. Popularmente, conhecida como surubim-do-Iguaçu, foi confirmada por Severi e Cordeiro (1994) e nomeada anos depois por Garavello (2005). Sua capturada em ambiente natural é

baixa (Severi e Cordeiro, 1994; Agostinho et al., 2002) e restrita a jusante do reservatório de Segredo (Garavello et al., 1997; Garavello, 2005), região que encontra-se fortemente impactada pelos represamentos e intensa ocupação antrópica (Feiden et al., 2006), sendo considerada a inclusão desta espécie em futuras listas de espécies ameaçadas (Baumgartner et al., 2012). Segundo Bittencourt et al. (2013) a espécie vem despertando o interesse pela produção devido as características como qualidade na carne, ausência de espinhas intramusculares e rendimento de carcaça.

O conhecimento da biologia da espécie, principalmente as relacionadas à reprodução são limitadas (Nakatani et al., 2001). Segundo Fávaro e Oliveira (2012) os estudos reprodutivos em peixes atendem diferentes propósitos, como a determinação do período reprodutivo, tipo e o local de desova, condições bióticas e abióticas apropriadas para a sobrevivência da prole, alterações na estratégia reprodutiva da espécie devido a mudanças no ambiente ou em áreas impactadas e aptidão zootécnica visando à produção comercial.

A atividade ovariana e testicular, em peixes, é controlada pelo eixo hipotálamo-hipófise-gônada (Murgas et al., 2009, Chen e Ge, 2011), este modulado pelos fatores abióticos (Bobe e Labbé, 2010; Taranger et al., 2010) resultando em um *efeito cascata* das funções metabólicas do sistema neuroendócrino (Randall et al., 2000). As mudanças hormonais provocam uma série de alterações bioquímicas e morfológicas (Romagosa et al., 2005) caracterizando a vitelogênese (Blythe et al., 1994) e espermatogênese (Nóbrega et al., 2009).

Desta forma, objetivou-se verificar os estádios de desenvolvimento ovariano e testicular do *S. melanodermatum* mantidos, em tanque-rede e viveiro escavado de terra, por meio de coletas bimestrais e avaliação do desenvolvimento gonadal, variação dos valores dos índices corpóreos (gonadossomáticos, hepatossomático, gordura celomática), fator de condição alométrico, somático e ΔK .

5.2. Material e Métodos

Steindachneridion melanodermatum com quatro anos de idade, peso e comprimento médio de 799,06g e 44,2cm, respectivamente, foram estocados em dois sistemas de cultivo, viveiro escavado de terra (VE) de 200m² e tanque-rede (TR) de 4,5 m³, totalizando 85 peixes por sistema de cultivo. O TR foi alocado na área aquícola do Centro de Difusão e Desenvolvimento de Tecnologias do rio Iguaçu (CDT Iguaçu), localizado no reservatório Governador José Richa e o VE em uma propriedade particular, ambos no município de Boa Vista da Aparecida, Paraná, Brasil.

Os peixes foram arraçoados duas vezes ao dia até a saciedade aparente (08:30 e 17:00hs) com ração comercial extrusada contendo 30% de proteína bruta e 3.200 kcal de energia digestível por kg^{-1} de ração. As variáveis oxigênio dissolvido, pH e temperatura foram aferidas quinzenalmente com multiparâmetro YSI Professional Plus.

As coletas iniciaram após dois meses de adaptação dos animais aos sistemas de cultivo (VE e TR) e alimentação. Aleatoriamente cinco a dez espécimes foram capturados bimestralmente e eutanasiados em solução com benzocaína (Gomes et al., 2001) e verificado a proporção entre machos e fêmeas, estabelecida em no mínimo dois animais para cada sexo em cada sistema de cultivo. A captura dos animais no TR foi realizada com auxílio de puçá e VE com auxílio de uma rede de arrasto. Os indivíduos coletados foram anestesiados, pesados em balança semi-analítica e medidos (comprimento total). Posteriormente, uma incisão ventral no sentido caudal-cefálico foi realizada para avaliação macroscópica.

O peso das gônadas, fígado e gordura celomática foram aferidos para posteriormente realizar o cálculo do índice gonadossomático (IGS) ($\text{peso das gônadas} / \text{peso do peixe} \times 100$), índice hepatossomático (IHS) ($\text{peso do fígado} / \text{peso do peixe} \times 100$), índice de gordura celomática (IGC) ($\text{peso da gordura celomática} / \text{peso do peixe} \times 100$), fator de condição alométrico [$K = W_t/L_t^b$], onde W_t = peso do peixe e L_t = comprimento do peixe], fator de condição somático [$K' = W_c/L_t^b$], onde $W_c = W_t - W_g$, W_g = peso da gônada] e fator de condição $\Delta K (K - K')$. O valor de 'b', foi obtido através do coeficiente angular da regressão entre W_t/L_t (Le Cren, 1951).

Para análise histológica, as gônadas foram fixadas em Bouin (75mL ácido pícrico saturado, 25mL formol PA e 5mL ácido acético glacial) por 24 horas e posteriormente uma amostra da região medial do lado direito foi coletada, desidratada em serie alcoólica crescente, diafanizada em xilol e realizada a inclusão em paraplast. Os cortes foram obtidos em micrótomo rotativo (5 μm), coloração realizada pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e as fotomicrografias obtidas em escâner de lâminas. Para determinar a escala de maturação, as lâminas foram analisadas com auxílio de microscopia de luz e as fases de maturação gonadal classificadas segundo terminologia proposta por Brown-Peterson et al. (2011).

Para os parâmetros reprodutivos avaliados, foram considerados somente os espécimes que tiveram as gônadas submetidas à histologia, totalizando 75 exemplares, 34 fêmeas e 41 machos.

Os dados obtidos foram analisados no programa Statistic 7.1 (Statsoft, 2005). Os valores médios de peso e comprimento para o período de coleta e valores de ΔK e IGS (agrupados nos meses de junho/agosto, outubro/dezembro e fevereiro/abril) foram submetidos

ao teste de Levene e análise de variância (ANOVA), caso verificado diferença estatística foi aplicado o teste de Tukey a 5% de significância. A correlação de Spearman foi aplicada para correlacionar os dados de temperatura da água, IGS, IHS, IGC e ΔK .

5.3. Resultados e Discussão

Os valores mensais de temperatura, oxigênio dissolvido e pH da água são apresentados na Figura 16. Os valores médios para temperatura, oxigênio dissolvido e pH da água foram de $22,6 \pm 2,9$; $6,2 \pm 1,6$ e $7,6 \pm 0,3$ respectivamente para VE e $24,0 \pm 2,7$; $5,6 \pm 1,0$ e $7,7 \pm 0,3$ respectivamente para TR no período de coleta, não observando diferenças significativas ($p > 0,05$) entre VE e TR para o período de coleta.

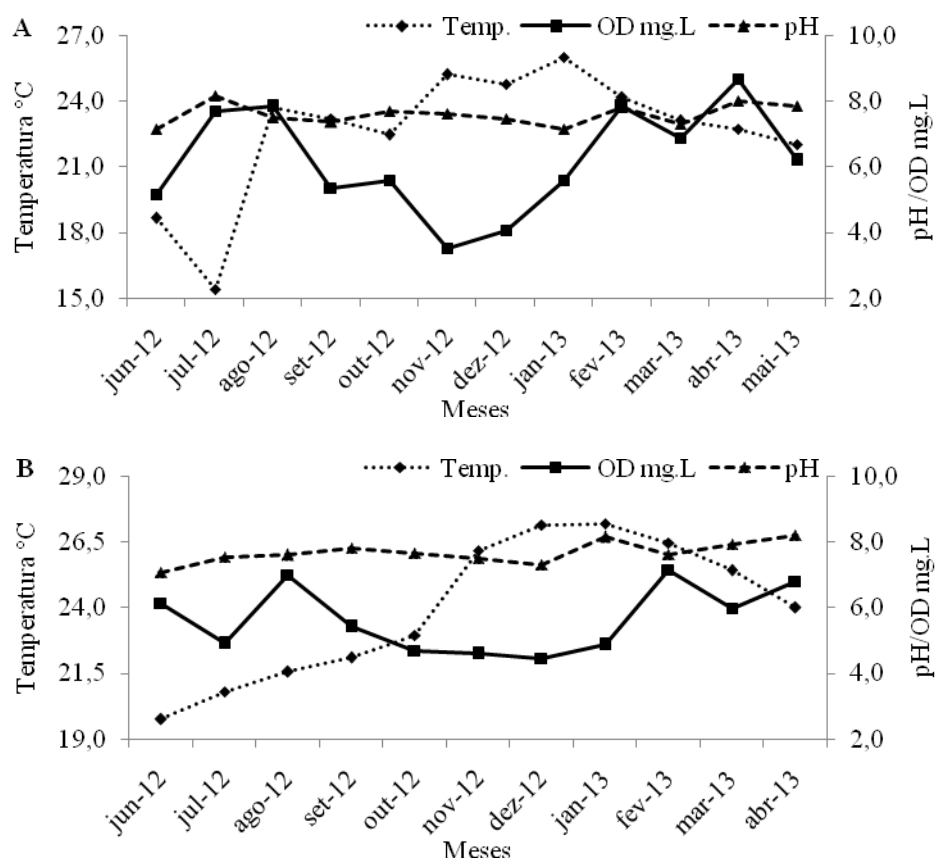


Figura 16. Variação mensal dos parâmetros abióticos temperatura, oxigênio dissolvido e pH na água no viveiro escavado de terra (A) e no tanque-rede (B).

Em relação aos valores médios de peso e comprimento total no período de coleta (Tabela 5), os exemplares coletados em VE apresentaram os maiores valores, diferindo significativamente ($p < 0,05$) de TR. Os pesos e comprimentos total médio entre fêmeas e machos no mesmo sistema de cultivo também apresentou diferença significativa ($p < 0,05$),

exceto para comprimento total entre fêmeas e machos em TR. Peixes de ambos os sexos apresentaram peso e comprimento superior em VE, corroborando com Hainfellner et al. (2012), que descreveram valores inferiores em TR para *Prochilodus lineatus* avaliando o desenvolvimento gonadal de reprodutores mantidos em tanque-rede e viveiro de terra.

Segundo Ludwig et al. (2005), *S. melanodermatum* com mais de um ano de vida e 1000g já atingiram a maturidade gonadal. Crepaldi et al. (2006) descrevem que o peso e o tamanho mínimo à primeira maturação são variáveis e dependentes de fatores como disponibilidade de alimento e temperatura da água. Os animais utilizados nesse estudo apresentavam quatro anos vida no início das coletas, esperando-se que todos os animais (machos e fêmeas) tivessem atingido a maturidade reprodutiva (ovariana e testicular).

Tabela 5. Valor médio para peso e comprimento total de fêmeas e machos de *Steindachneridion melanodermatum* mantidos em viveiro escavado de terra (VE) e tanque-rede (TR).

Estádio	Peso (g)		Comprimento total (cm)		Número de peixes	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
VE	1069,2±238,6 ¹²	827,2±171,5 ¹²	47,9±3,3 ¹²	44,1±3,7 ¹²	17	17
TR	777,2±166,3 ¹²	627,7±152,2 ¹²	42,2±3,4 ¹	41,5±2,8 ¹	17	24

¹ Valores apresentam diferença significativa a 5% entre os sistemas de cultivo (TV e TR) para sexo iguais (fêmea e macho).

² Valores apresentam diferença significativa a 5% entre fêmeas e machos no mesmo sistema de cultivo (VE e TR).

Não foram observadas diferenças macro e microscópicas (descrição das fases) nos ovários e testículos entre os sistemas de cultivo, VE e TR. Os ovários de *S. melanodermatum* (Figura 17) são estruturas pares alongadas com formato ovóide ligada a parede dorsal da cavidade, dorsalmente ao intestino e fundidas na extremidade posterior formando o oviduto que se abre no poro urogenital posterior ao ânus, com o tamanho, peso e coloração variando de acordo com as fases de desenvolvimento ovocitário (Figura 17).

Os testículos de *S. melanodermatum* (Figura 18) são estruturas pares, localizadas dorsalmente na região da cavidade celomática, fundidos na região pélvica formando o ducto espermático que se abre externamente no poro urogenital, não apresentando projeções digitiformes em sua extensão, variando de tamanho e coloração, de transparente em

indivíduos imaturos a branco em indivíduos em fase de desenvolvimento e apto a liberar esperma, e hemorrágico em indivíduos com testículos na fase de regeneração (Figura 18), características semelhantes descritas em outros trabalhos com espécies siluriformes (Ghiraldelli et al., 2007; Reidel et al., 2010; Tessaro et al., 2012) exceto pelas projeções digitiformes. Segundo Batlouni et al. (2006) projeções digitiformes são descritas em testículos de peixes siluriformes.

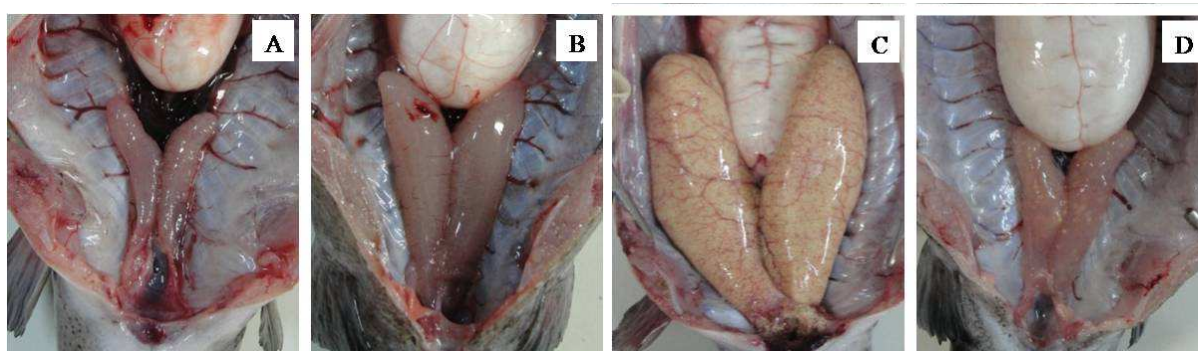


Figura 17. Características macroscópicas dos ovários de *Steindachneridion melanodermatum*. Fases do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento (B), apto a desova (C) e regeneração (D).

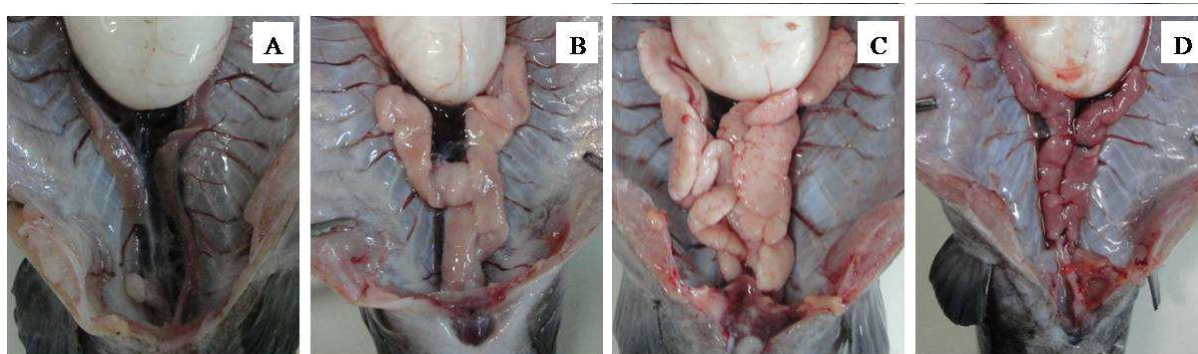


Figura 18. Características macroscópicas dos testículos de *Steindachneridion melanodermatum*. Fases do ciclo reprodutivo: imaturo (A), desenvolvimento (B), apto a liberar esperma (C) e regeneração (D).

A descrição das fases de desenvolvimento ovariano e testicular de *S. melanodermatum* por meio das características microscópicas foi similar entre os dois sistemas de cultivo, sendo o desenvolvimento ovariano (Tabela 6) e testicular (Tabela 7) classificados nas fases: imaturo, desenvolvimento, apto a desova/liberar esperma e regeneração.

Tabela 6. Fases de maturação ovariana de *Steindachneridion melanoderdatum*.

Estádio	Figura	Características microscópicas
Imaturo	19-A	Lamelas ovulíferas organizadas, contendo ovogônias e ovócitos em crescimento primário (PG).
Desenvolvimento	19-B e C	Presença de ovócitos Vgt1 e Vgt2 com diferentes graus de inclusão de grânulos de vitelo e ovócitos Vgt3 com inclusão de grânulos de vitelo basicamente concluída
Apto a desova	19-D e E	Predomínio de Vgt3 com grânulos de vitelo ocupando praticamente toda a área citoplasmática, ovócitos Vgt1 e POFs.
Regeneração	19-F	Presenças de ovócitos PG e POFs.

Ovócito crescimento primário (PG); ovócito vitelogênico primário (Vgt1); ovócito vitelogênico secundário (Vgt2); ovócito vitelogênico terciário (Vgt3); ovócito atrésico (A); folículo pós-ovulatório (POF)

Tabela 7. Fases de maturação testicular de *Steindachneridion melanoderdatum*.

Estádio	Figura	Características microscópicas
Imaturo	20-A	Presença de Sg indiferenciadas no epitélio dos túbulos germinativos
Desenvolvimento	20-B	Túbulos seminíferos com cistos e diferentes células da linhagem espermática (diferenciação por meiose), cada cisto apresentando células da mesma linhagem. Células da linhagem espermática: espermátocitos, espermátides e Sz. Observa-se a presença de espermátogônias em número reduzido.
Apto a liberar esperma	20-C	Predomínio de Sz com número reduzido de espermátogônias, espermátocitos e espermátides.
Regeneração	20-D	Ausência de Sz ou pequena quantidade residual, túbulos seminíferos delimitados e presença de Sg.

Espermátogônia (Sg); espermatozoide (Sz).

A análise microscópica dos testículos de *S. melanoderdatum* evidenciou a presença de ovócitos em crescimento primário (PG) ou folículos ovarianos perinucleolares com citoplasma intensamente basófilo sem inclusões citoplasmáticas, imersos em tecido testicular (Figura 21). Romagosa et al. (2010) estudando o *S. parahybae* encontraram em um único indivíduo identificado como macho e submetido ao tratamento hormonal em dose única a presença de gametas masculino e feminino. Os autores sugerem que o hermafroditismo simultâneo neste bagre seja por provável distúrbio ambiental. Em *S. melanoderdatum* a porcentagem encontrada foi de 14,63% em relação ao número total de machos coletados. O hermafroditismo pode ocorrer de forma simultânea (ao mesmo tempo porções femininas e masculinas), protândrico (primeiramente funciona como masculina) e protogínico (primeiramente funciona como feminina) (Vazzoler, 1996).

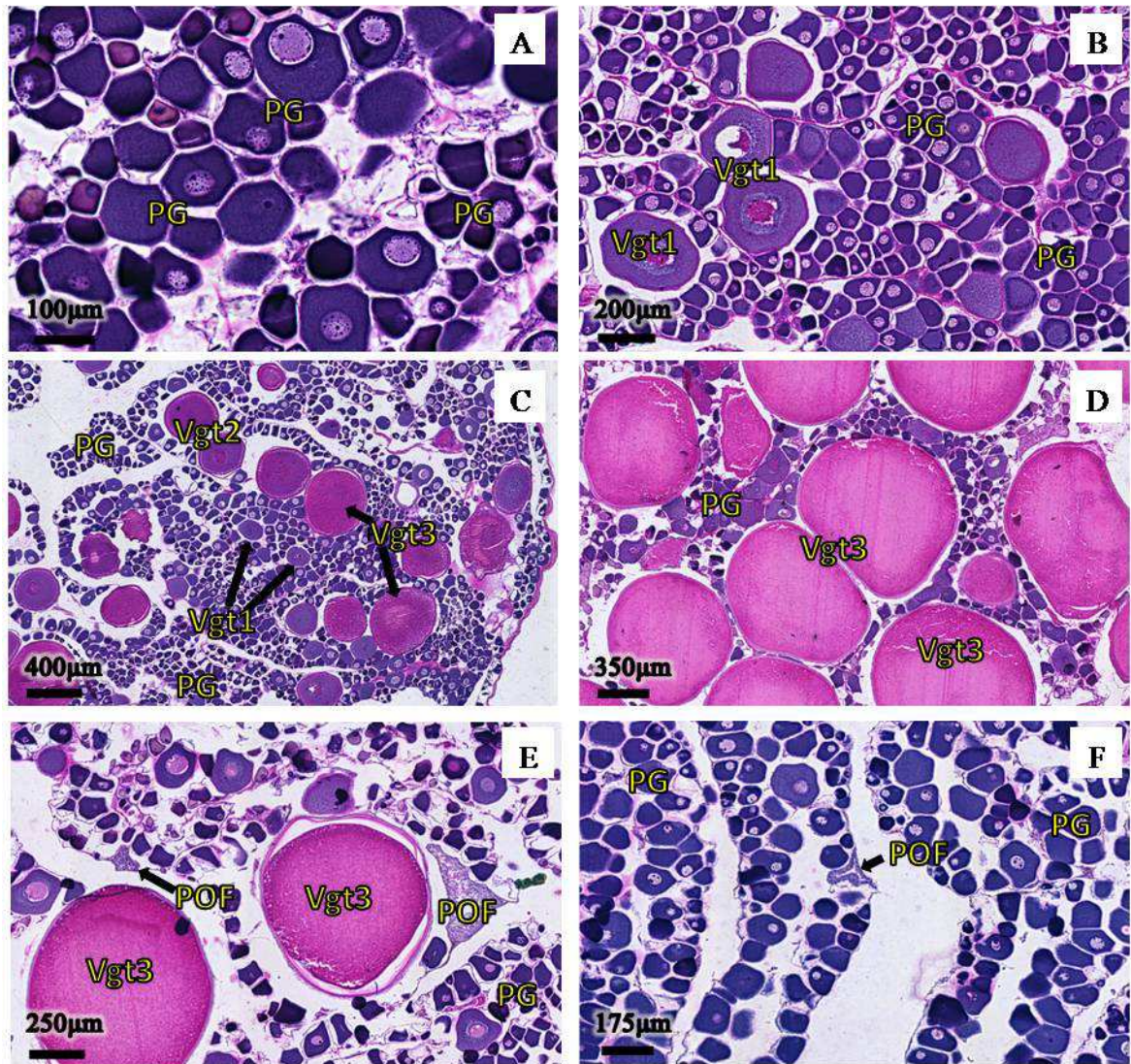


Figura 19. Cortes histológicos de ovários de *Steindachneridion melanoderdatum* (corados em HE). A) Ovários na fase imatura, presença de ovócitos em crescimento primário (PG) sem inclusões citoplasmáticas. B e C) Ovários na fase de desenvolvimento com ovócitos em crescimento primário (PG) e ovócitos vitelogênicos primários (Vgt1), secundários (Vgt2) e terciários (Vgt3); F) Ovários aptos a desova com predomínio de ovócitos vitelogênicos terciários (Vgt3) e ovócitos em crescimento primário (PG), observa-se a presença de folículos pós-ovulatório (POF); G) Ovários em fase de regeneração com ovócitos em crescimento primário (PG) e folículos pós-ovulatório (POF).

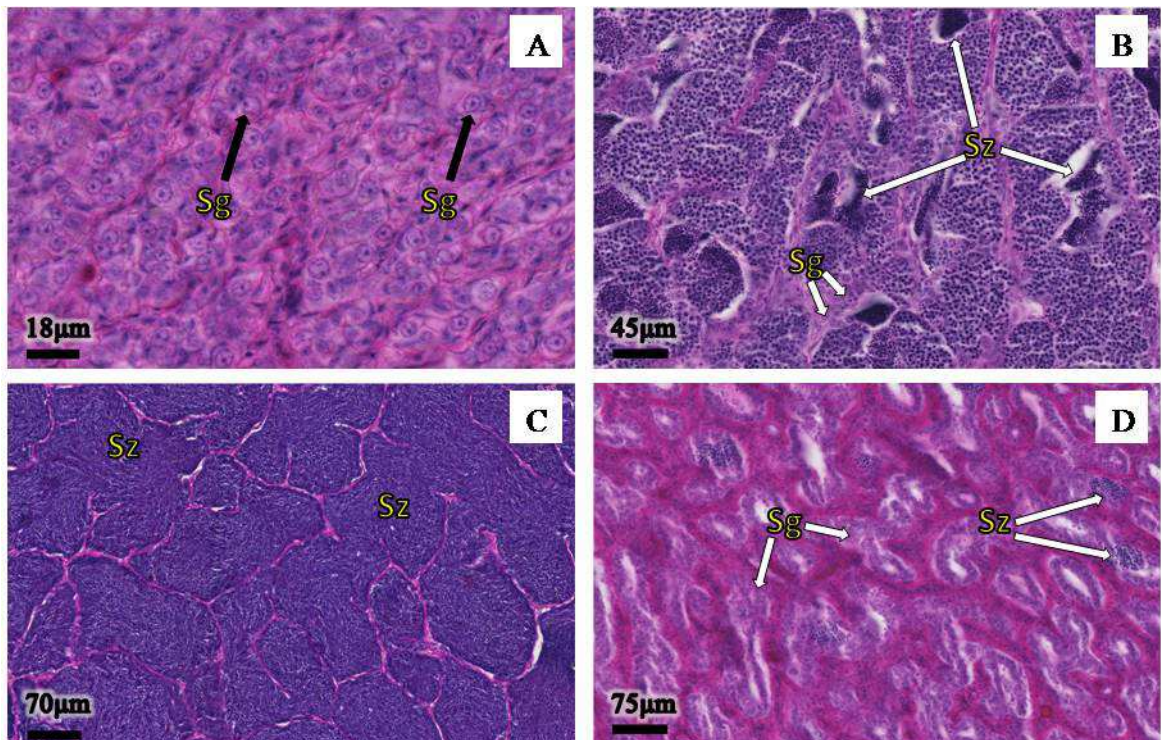


Figura 20. Cortes histológicos de testículos de *Steindachneridion melanoderdatum* (corados em HE). A) Testículos na fase imatura com espermatogônias (Sg); B) Testículos em fase de desenvolvimento contendo diferentes células da linhagem espermática e espermatozoides (Sz) incluindo espermatogônias (Sg); C) Testículos aptos a liberar esperma com predomínio de espermatozoides (Sz); D) Testículos em fase de regeneração, ausência ou quantidade residual de espermatozoides (Sz), túbulos seminíferos delimitados e presença de espermatogônias (Sg).

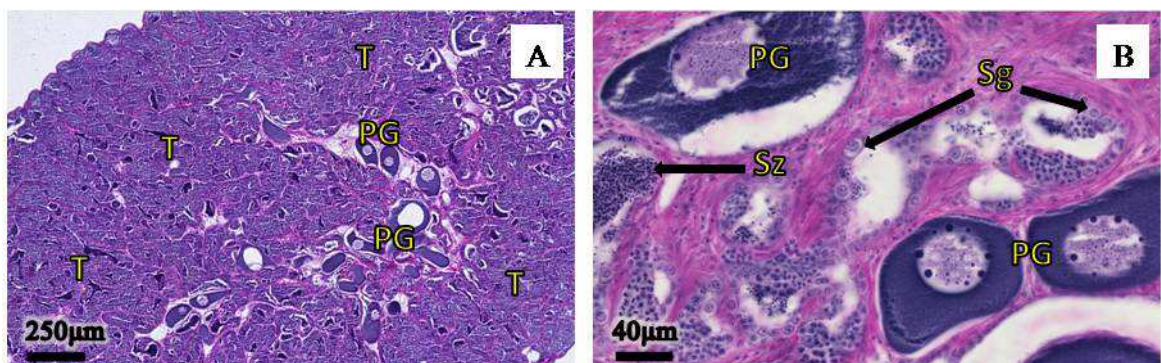


Figura 21. Cortes histológicos de testículos de exemplares hermafroditas de *Steindachneridion melanoderdatum* (corados em HE). A e B) Presença de ovócitos em crescimento primário (PG) sem inclusões citoplasmáticas imersos no tecido testicular (T) em desenvolvimento, contendo diferentes células da linhagem espermática, incluindo espermatogônias (Sg) e espermatozoides (Sz).

Os valores de IGS agrupados (Figura 22) diferiram estatisticamente ($p < 0,05$), com os maiores valores em outubro/dezembro para fêmea VE, junho/agosto e outubro/dezembro para fêmea TR, outubro/dezembro para macho VE e junho/agosto e outubro/dezembro para macho TR. Para o mesmo mês agrupado somente fêmeas coletadas em junho/agosto diferiram entre VE e TR. Os maiores valores de IGS individual nas fêmeas e machos foram verificados na coleta de dezembro em VE, 8,35 e 3,16 respectivamente e para TR nos meses de outubro e dezembro para fêmeas e machos, 5,00 e 1,99, respectivamente.

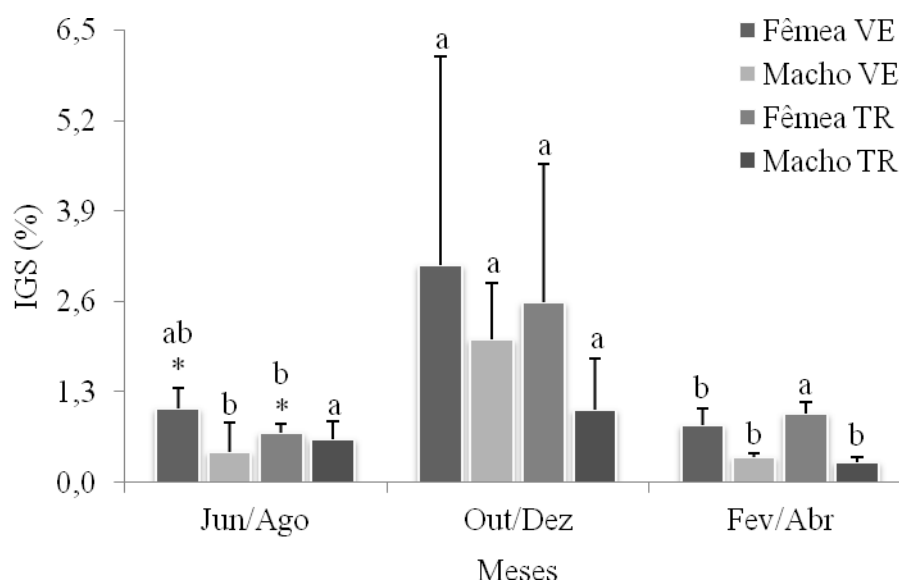


Figura 22. Valores médios do índice gonadosomático (IGS) de *Steindachneridion melanoderdatum* mantidos em viveiro escavado de terra (VE) e tanque-rede (TR) agrupados nos meses junho/agosto, outubro/dezembro e fevereiro/abril. Letras distintas sobre as barras indicam diferença estatística para o mesmo sexo e sistema de cultivo (TR e TV) entre os meses agrupados e asterisco indica diferença estatística entre os sistemas de cultivo para o mesmo sexo e mês agrupado.

A frequência percentual bimestral (Figura 23) indicou fêmeas VE (Figura 23-A) com ovários imaturos no mês de junho, em desenvolvimento em junho, agosto, outubro e abril, aptos a desova em outubro, dezembro e fevereiro e na fase de regeneração em fevereiro. Para fêmeas mantidas em TR (Figura 23-C), ovários imaturos foram encontrados nos meses de junho, dezembro e abril, em desenvolvimento em junho, agosto, outubro e abril, aptos a desova nos meses de outubro e dezembro e regeneração no mês de fevereiro. Para machos mantidos em VE (Figura 23-B), testículos imaturos foram encontrados nos meses de junho e fevereiro, em desenvolvimento em junho, agosto, outubro e dezembro, aptos a a liberar

esperma em outubro e dezembro e regeneração em fevereiro e abril. Para machos mantidos em TR (Figura 16-D), foi observado testículo em maturação em junho, agosto e outubro, maduro em outubro e dezembro e esvaziado em fevereiro e abril.

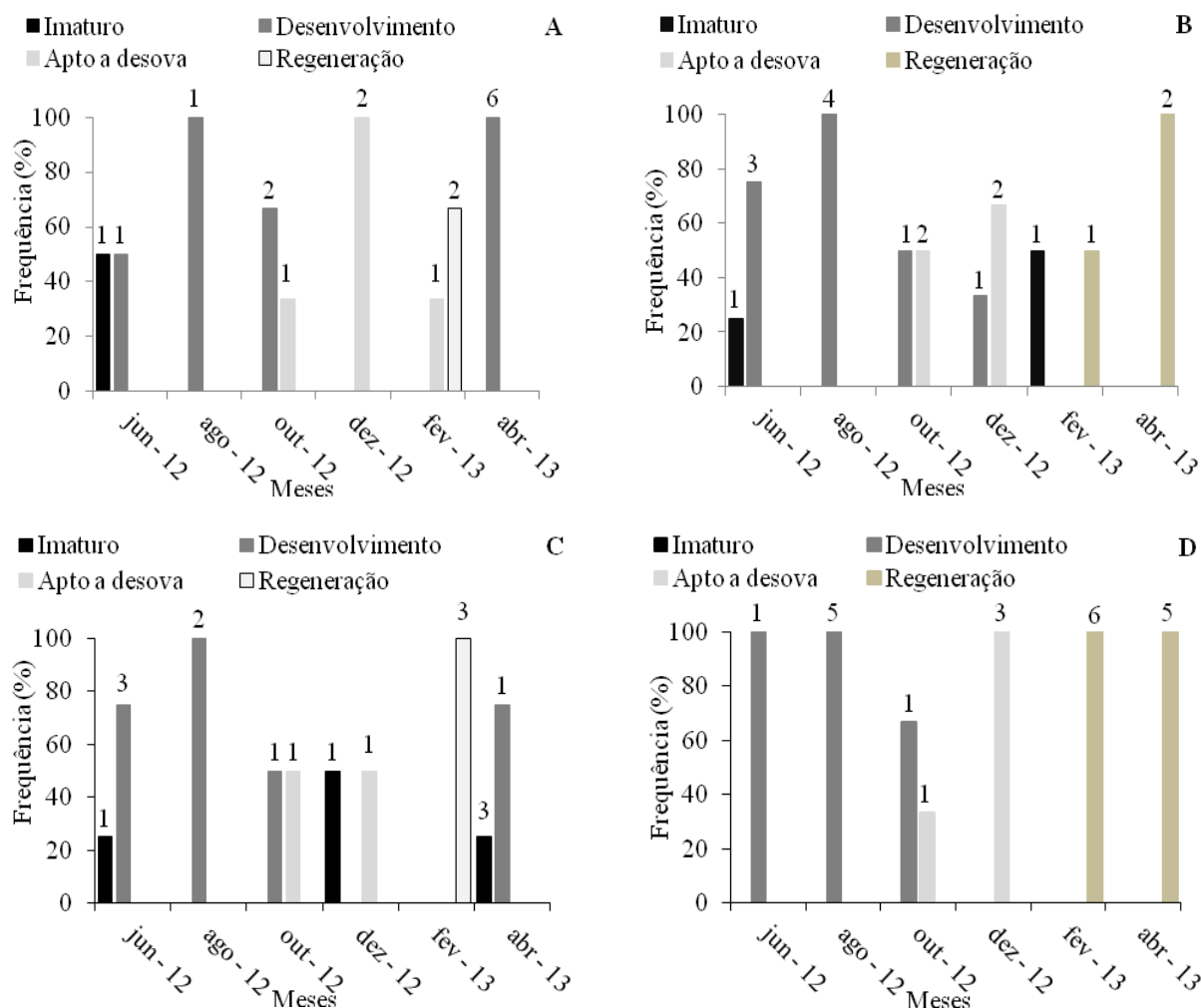


Figura 23. Frequência percentual (%) bimestral das fases de desenvolvimento gonadal do *Steindachneridion melanodermatum* para fêmeas (A) e machos (B) mantidos em viveiro escavado de terra e, fêmeas (C) e machos (D) mantidos em tanque-rede.

Os valores de frequência percentual bimestral das fases de desenvolvimento ovariano e testicular indicam que fêmeas e machos mantidos em TV e TR apresentam sincronismo para a fase apta a desova ou apto a liberar esperma nos meses de outubro e dezembro. Em fevereiro verificou-se em VE fêmeas aptas a desova, contudo não verificado machos aptos a liberar esperma.

Ludwig et al. (2005) obtiveram sucesso na reprodução induzida de *S. melanodermatum* quando selecionados (fêmeas e machos) entre os meses de outubro e

dezembro, indicando período apto a desova com folículos ovarianos em vitelogênese completa. Reynalte-Tataje et al. (2012) realizando coletas em ambiente natural, descrevem ovos com embriões na fase de cauda livre de *S. scriptum* nos meses de outubro e novembro. Machos selvagens da mesma espécie, mantidos em cativeiro e alimentados com dietas artificiais, selecionados no mês de novembro e submetidos à indução hormonal apresentam fácil liberação de sêmen quando massageados ventralmente (Luz et al., 2001).

No processo de ovogênese ocorre a formação de estruturas, como folículos atrésicos e vazios ou folículo pós-ovulatórios, que facilitam a interpretação das fases de desenvolvimento ovariano (Fávaro e Oliveira, 2012). A presença de folículos pós-ovulatórios (POFs) indica a ocorrência de desova (Vazzoler, 1996; Romagosa et al., 2005; Andrade et al., 2010; Silva, et al., 2010; Fávaro e Oliveira, 2012). Neste estudo, observou-se a presença de folículos pós-ovulatórios (Figura 19-E) caracterizando ovários semidesovados. Segundo Fávaro e Oliveira (2012) neste estágio (fase) ocorrem folículos ovarianos em diferentes fases de desenvolvimento, ocorrendo apenas em peixes que realizam desova parcelada. Essas características indicam que fêmeas de *S. melanoderdatum* possuem desova parcelada, entretanto outros estudos são necessários para confirmação. Os folículos pós-ovulatórios não apresentam função endócrina, sendo absorvidos pelo organismo (Drummond et al., 2000).

Uma importante ferramenta na análise da atividade reprodutiva em peixes é a diferença entre o fator de condição alométrico e somático, definida como fator de condição ΔK (Vazzoler, 1996; Gomiero e Braga, 2006), pois expressa, de modo relativo, a parcela das reservas do animal transferida para o desenvolvimento das gônadas (Vazzoler, 1996).

Segundo Vazzoler (1996) o período delimitado pelos maiores valores de ΔK deve corresponder ao período reprodutivo, com grande deslocamento da energia acumulada para o desenvolvimento das gônadas, migração ou outro comportamento reprodutivo. Essa relação vem sendo utilizada e confirmada em diversos trabalhos, com espécies e ambientes distintos (Gomiero e Braga, 2006; Silva et al., 2010; Oliveira e Fávaro, 2011).

Para *S. melanoderdatum* os maiores valores de ΔK para fêmeas mantidas em VE (Figura 24-A) foram nos meses de agosto, outubro e dezembro, e fêmeas mantidas em TR (Figura 24-C) nos mesmos e também em fevereiro e abril. Para machos mantidos em VE (Figura 24-B) os maiores valores foram em outubro e dezembro, e machos mantidos em TR (Figura 24-D) nos meses de junho, agosto, outubro e dezembro. Os maiores valores de ΔK correspondeu aos valores descritos para os valores do IGS e frequência percentual (%) bimestral dos estádios de desenvolvimento gonadal. Observa-se que fêmeas em VE e TR apresentaram valores de ΔK superiores aos encontrados nos machos, segundo Vazzoler

(1996) o deslocamento de energia para o desenvolvimento das gônadas e mais evidente em fêmeas devido ao deslocamento de energia para síntese de vitelogenina nos hepatócitos do fígado (Wallace e Selman, 1981) e sua incorporação nos ovócitos (Jalabert, 2005; Lubzens et al., 2010).

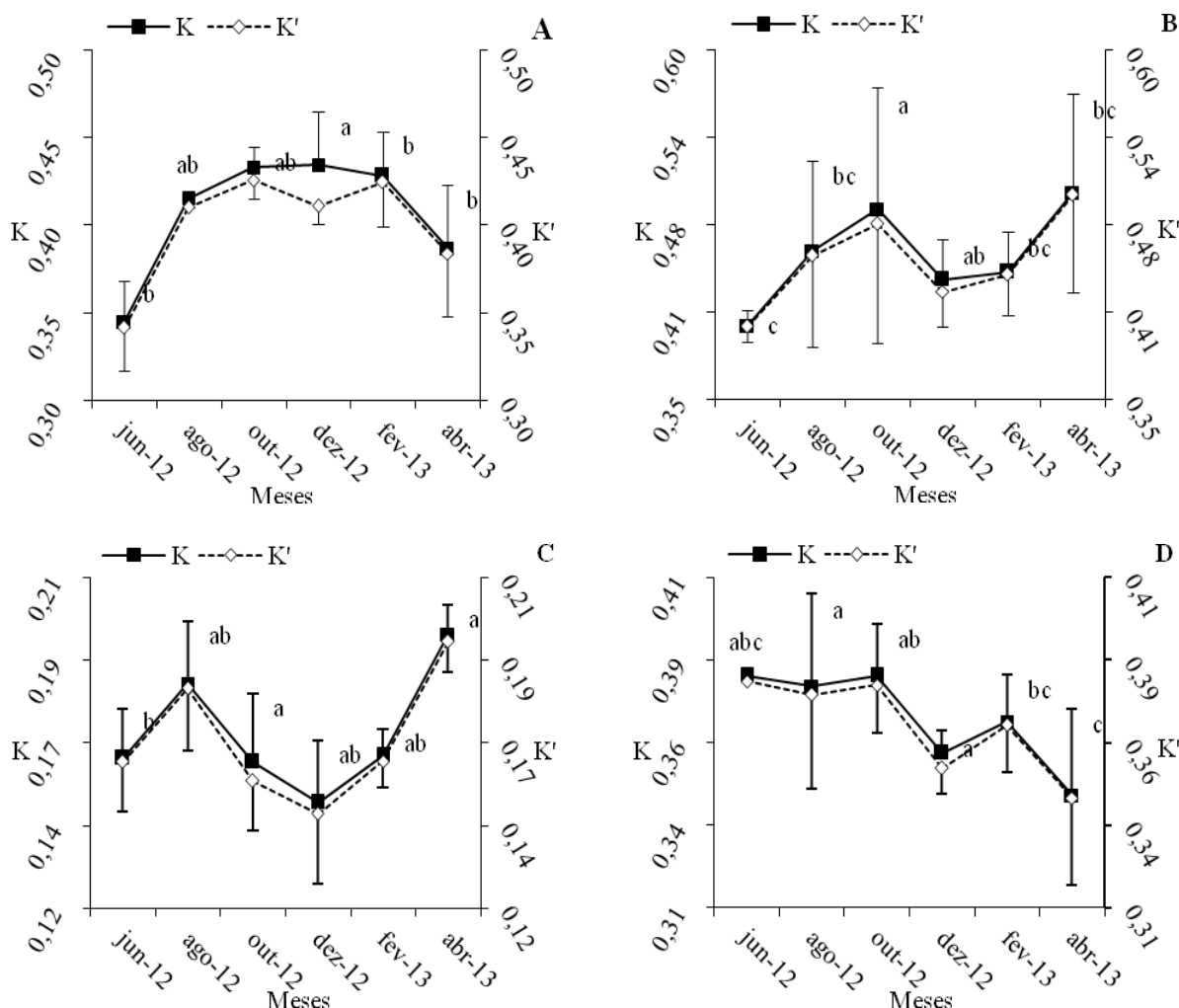


Figura 24. Valores médios bimestrais do fator de condição alométrico (K) e somático (K') para *Steindachneridion melanodermatum* mantidos em viveiro escavado de terra (A - Fêmea e B - Macho) e tanque-rede (C - Fêmea e D - Macho). O distanciamento entre K e K' representa os valores de ΔK . Letras distintas entre os meses de coleta indicam diferença significativa para os valores de ΔK .

Na correlação de Sperman (Tabela 8) os valores do IGS e ΔK apresentaram alta. Em relação aos valores de temperatura e IGS, somente observou-se correlação em machos em VE e entre temperatura e ΔK em machos em VE e fêmeas em TR. Oliveira e Fávoro (2011) relatam correlação positiva entre fatores ambientais e reprodutivos, e segundo Ghiraldelli et

al. (2007) o desenvolvimento gonadal ocorre gradualmente devido à elevação da temperatura da água. Correlação negativa foi encontrada em fêmeas TR para IGC com IGS e ΔK . Agostinho et al. (1990) estudando *A. lacustris*, sugerem que a maturação ovariana e o processo de reprodução levam a depleção das reservas orgânicas. Em TR o acesso a alimento, que não seja o fornecido (ração), é limitado, provavelmente a restrição a alimento em quantidade adequada ou acesso a alimento natural, levou a maior deslocamento de energia de reserva para o desenvolvimento das gônadas, gerando as correlações negativas entre esses índices organo corporais.

Tabela 8. Correlação de Sperman entre os valores de temperatura da água, dos índices gonadosomático, hepatossomático, gordura celomática e fator de condição ΔK (diferencial entre fator de condição alométrico e somático) para *Steindachneridion melanoderdatum* mantidos em tanque escavado de terra (VE) e tanque-rede (TR). Valores em itálico correspondem às fêmeas e negrito machos. Somente são apresentados os valores de correlação com significância ($p < 0,05$).

Parâmetros	TV				
	Temp.	IGS	IHS	IGC	ΔK
Temperatura da água (T °C)	-				
Índice gonadosomático (IGS)	0,58	-			<i>0,94</i>
Índice hepatossomático (IHS)			-		<i>0,54</i>
Índice de gordura celomática (IGC)				-	
Fator de condição ΔK (ΔK)	0,58	0,99			-
	TR				
	Temp.	IGS	IHS	IGC	ΔK
Temperatura da água (T °C)	-			<i>-0,60</i>	<i>0,55</i>
Índice gonadosomático (IGS)		-		<i>-0,59</i>	<i>0,89</i>
Índice hepatossomático (IHS)			-	<i>0,54</i>	
Índice de gordura celomática (IGC)				-	<i>-0,68</i>
Fator de condição ΔK (ΔK)		0,99			-

Temp.= Temperatura da água (T °C)

5.4. Conclusão

Pela análise macro e microscópica dos ovários e testículos foram determinadas quatro fases de desenvolvimento ovariano e testicular em *S. melanoderdatum* em ambos os sistemas de cultivo, não observando diferenças no desenvolvimento das gônadas em animais mantidos em VE ou TR, sendo as fases: Imaturo, desenvolvimento, apto a desova/liberar esperma e regeneração. Os valores da frequência percentual bimestral das fases de desenvolvimento

ovariano e testicular indicaram fêmeas aptas à desova e machos aptos a liberar esperma em VE e TR nos meses de outubro e dezembro e também fevereiro para fêmeas VE, período correspondente aos picos do IGS e ΔK , este podendo ser utilizado como indicador de período reprodutivo. A presença de folículos pós-ovulatórios e folículos em desenvolvimento final no mesmo período indica que a espécie apresenta desova parcelada. Folículos ovarianos perinucleolares ou em crescimento primário imersos em tecido testicular, caracteriza ocasional hermafroditismo na espécie, no entanto novos estudos são necessários para confirmação e causa uma característica da espécie ou um distúrbio ambiental.

5.5. Referência

Agostinho, A.A.; Gomes, L.C.; Fernandez, D.R. Suzuki, H.i. Efficiency of fish ladder for Neotropical ichthyofauna. *River Research and Application*, v.18, p.299-306, 2002.

Agostinho, A.A.; Barbieri, G.; Verani, J.R.; Hahn, N.S. Variação do fator de condição e do índice hepatossomático e suas relações com o ciclo reprodutivo em *Rhinelepis áspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricariidae) no Rio Paranapanema, Porecatu. *Ciência e Cultura*, v.42, p.711-714, 1990.

Andrade, V.X.L.; Honji, R.M.; Romagosa, E. Processo de maturação das gônadas de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) alimentado com dois níveis protéicos e suplementados com óleo de milho. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.2, p.332-342, 2010.

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

Baumgartner, G.; Pavanelli, C. S.; Baumgartner, D.; Bifi, A. G.; Debona, T.; Frana, V. A. Peixes do baixo rio Iguaçu. Editora Eduem, p.203, 2012.

Bittencourt, F.; Signor, A.A.; Boscolo, W.R.; Coldebella, A.; Manske, C.; Feiden, A. Densidade de estocagem do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanoderdatum*)

cultivado em tanque rede no reservatório Governador José Richa. Revista Cultivando o Saber, Cascavel, v.6, n.1, p.202-209, 2013.

Blythe, W.G.; Helfrich, L.A.; Sullivan, C.V. Sex steroid hormone and vitellogenin levels in striped Bass (*Morone saxatilis*) maturing under 6-, 9-, and 12-month photothermal cycles. General and Comparative Endocrinology, v.94, p.122-134, 1994.

Bobé J. e Labbé, C. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology, v.165, p.535-548, 2010.

Brown-Peterson, N. J.; Wyanski, D. M.; Saborido-Rey, F.; Maceicz, B. J.; Lowerre-Barbieri, S. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science, v.3, p.52-70, 2011.

Chen, W. e Ge, W. Ontogenic expression profiles of gonadotropins (fshd and ihb) and growth hormone (gh) during sexual differentiation and puberty anset in female. Biology of Reproduction, v.86, n.3, p.1-11, 2011.

Crepaldi, D.V.; Faria, P.M.C.; Teixeira, E.A.; Ribeiro, L.P.; Costa, A.A.P.; Melo, D.C.; Cintra, A.P.R.; Prado, S.A.; Costa, F.A.A.; Drumond, M.L.; Lopes, V.E.; Moraes, V.E. Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*). Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.30, n.3/4, p.159-167, 2006.

Drummond, C.D.; Bazzoli, N.; Rizzo, E. Postovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. Journal of Experimental Zoology, v.287, p.176-182, 2000.

Eigenmann, C.H. e Eigenmann, R.S. *Steindachneridion*. Science, n.1301, p.525-526, 1919.

Fávaro, L. F. e Oliveira, E. C. Ecologia reprodutiva em peixes. In: Ribeiro, C. A. O.; Reis Filho, H. S.; Grötzner, S. R. Técnicas e métodos para utilização prática em microscopia. São Paulo, editora Santos, p.422, 2012.

Garavello, J.C.; Pavanelli, C.S.; Suzuki, H.I. Caracterização da ictiofauna do rio Iguaçu. In: Agostinho, A.A.; Gomes, L.C. Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo. Maringá: Eduem, 1997. p.61-84

Garavello, J.C. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes:Pimelodidae). Neotropical Ichthyology, v.3, n.4, p.607-623, 2005.

Ghiraldelli, L.; Machado, C.; Fracalossi, D.M.; Zaniboni Filho, E. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. Acta Scientiarum Biological Sciences, v.29, n.4, p.349-356, 2007.

Gomiero, L.M. e Braga, F.M.S. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Brycon opalinus* (Pisces: Characiformes) no Parque Estadual da Serra do Mar-Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, Estado de São Paulo, Brasil. Acta Scientiarum. Biological Sciences, v.28, n.2, p.135-141, 2006.

Hainfellener, P.; Souza, T.G.; Moreira, R.G.; Nakaghi, L.S.O.; Batlouni, S.R. Gonadal steroids levels and vitellogenesis in the formation of oocytes in *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Teleostei: Characiformes). Neotropical Ichthyology, v.10, n.3, p.601-612, 2012.

Jalabert, B. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. Reproduction Nutrition Development, v.45, p.261-279, 2005.

Le Cren, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). Journal of Animal Ecology, v.20, n.2, p.201-219, 1951.

Lubzens, E.; Young, G.; Bode, J.; Cerdà, L. Oogenesis in teleostes: How fish eggs are formed. General and Comparative Endocrinology, v.165, p.367-389, 2010.

Ludwig, L.A.M.; Gomes, E.; Artoni, R.F. Um método de reprodução induzida para o surubim *Steindachneridion melanodermatum* (Siluriformes,Pimelodidae) do rio Iguaçu. Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde, v.11, n.3, 2005.

Luz, R.K.; Ferreira, A.A.; Reynalte, D.A.; Zaniboni-Filho, E. Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen de suruvi, *Steindachneridion scripta* (Pimelodidae). Boletim do Instituto de Pesca, v.27, n.1, p.39-42, 2001.

Murgas, L.D.S.; Drumond, M.M.; Pereira, G.J.M.; Felizardo, V.O. Manipulacao do ciclo e da eficiencia reprodutiva em especies nativas de peixes de agua doce. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Suplemento, n.6, p.70-76, 2009.

Nakatani, K.; Agostinho, A.A.; Baumgartner, G.; Bialecki, A.; Sanches, P.V.; Makrakis, M.C.; Pavanelli, C.S. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. EDUEM. Maringá, 2001, 378p.

Nóbrega, R.H.; Batlouni, S.R.; França, L.R. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. Fish Physiology Biochemistry, v.35, p.197-206, 2009.

Oliveira, E.C. e Fávaro, L.F. Reproductive biology of the flatfish *Etropus crossotus* (Pleuronectiformes:Paralichthyidae) in the Paranaguá Estuarine Complex, Paraná State, subtropical region of Brazil. Neotropical Ichthyology, n.9, v.4, p.795-805, 2011.

Randall, D.; Bruggren, W.; French, K. Fisiologia animal: mecanismos e Adaptação. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 2000. 729p.

Reidel, A.; Boscolo, W.R.; Feiden, A.; Romagosa, E. The effect of diets with different levels of protein and energy on the process of final maturation of the gametes of *Rhamdia quelen* stocked in cages. Aquaculture, v.298, p.354-359, 2010.

Reynalte-Tatajee, D.A.; Nuñez, A.P.O.; Nunes, M.C.; Garcia, V.; Lopes, C.A.; Zaniboni-Filho, E. Spawning of migratory fish species between two reservoirs of the upper Uruguay River, Brasil. Neotropical Ichthyology, v.10, n.4, p.829-835, 2012.

Romagosa, E. Coexistence of ovary and testis in an only one of surubim-do-paíba *Steindachneridion parahybae* with simultaneous production of gametes. Anais do Aquaculture Europe 2010, Porto, Portugal, p.1132-1133, 2010.

Romagosa, E.; Batlouni, S.R.; Borella, M.I.; Leonardo, A.F.G. Involução dos folículos pós-ovulatórios em *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pisces, Teleostei). Boletim do Instituto de Pesca, v.31, n.2, p.129-135, 2005.

Severi, W. e Cordeiro, A. A. M. Catálogo de peixes da bacia do rio Iguaçu. IAP, 1994.

Silva, J.P.A.; Muelbert, A.E.; Oliveira, E.C.; Fávaro, L.F. Reproductive tactics used by the Lambari *Astyanax aff. fasciatus* in three water supply reservoirs in the same geographic region of the upper Iguaçu River. Neotropical Ichthyology, v.8, n.4, p.885-892, 2010.

Taranger, G.L.; Carrillo, M.; Shulz, R.W.; Fontaine, P.; Zanuy, S.; Felip, A.; Weltzien, F.A.; Dufour, S.; Karlsen, Ø.; Norberg, B.; Andersson, E.; Hansen, T. Control of puberty in farmed fish. General and Comparative Endocrinology, v.165, p.483-515, 2010.

Tessaro, L.; Toledo, C.P.R.; Neumann, G.; Krause, R.A.; Meurer, F.; Natali, M.R.M.; Bombardelli, R.A. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase. Aquaculture, v.326-329, p.74-80, 2012.

Vazzoler, A.E.A.M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: Eduem, p.196, 1996.

Wallace, R.A. e K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. American Zoology, v.21, p.325-343, 1981.