

DANIELLA CRISTINA JANUÁRIO RIBEIRO

BIOLOGIA REPRODUTIVA DO PIRÁ *Conorhynchus
conirostris* VALENCIENNES, 1840 (PISCES:
PIMELODIDAE) DO RIO SÃO FRANCISCO,
REGIÃO DE PIRAPORA, MINAS GERAIS.

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE
2002

DANIELLA CRISTINA JANUÁRIO RIBEIRO

BIOLOGIA REPRODUTIVA DO PIRÁ
***Conorhynchus conirostris* VALENCIENNES, 1840**
(PISCES: PIMELODIDAE) DO RIO SÃO
FRANCISCO, REGIÃO DE PIRAPORA,
MINAS GERAIS.

Orientador: Prof. Dr. Nilo Bazzoli

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia de Vertebrados (Área de Concentração: zoologia de vertebrados de ambientes impactados) da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em zoologia.

Belo Horizonte
2002

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Ictiologia do Programa de Pós-graduação em Zoologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, sob orientação do Prof. Dr. Nilo Bazzoli e com apoio das seguintes instituições:

- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq): PADCT/CIAMB III - processo 62.0088/98-2 e CNPq - processo 479733/01-5;
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);
- Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG);
- FIP - PUC Minas processo 99/02-P;
- Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Minas Gerais (CEMEL/UFMG).

*"A toda comunidade científica nacional e internacional,
nosso apelo no sentido de que iniciem, prossigam ou intensifiquem os estudos
que nos ajudem a impedir que espécies ainda pouco conhecidas,
da maior importância na nossa cultura e história,
deixem de existir."*

(José Carlos Carvalho
Sec.Est. Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável)

Ao meu querido esposo, *Marcelo Lopes*,
que se faz presente em todos os momentos,
firmes e trêmulos, e que, passo a passo,
transmite-me segurança necessária para enfrentar
meu caminho e seguir. . .

Aos meus amados pais, *José Maurício e Maria Elízia*,
que sempre me incentivaram e
acreditaram que tudo ia dar certo,
minha eterna gratidão!

Ao professor e orientador *Dr. Nilo Bazzoli*,
que se dispôs a ensinar-me e a
contribuir para minha formação profissional.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, a quem pertence minha vida, minha alegria de hoje e as incertezas do amanhã;
- À PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS, que ao criar o Programa de Pós-graduação em Zoologia de Vertebrados, permitiu que nós, biólogos, dedicássemos mais ao estudo dos vertebrados visando sua proteção;
- Ao professor Dr. José Enemir dos Santos, pelo incentivo, ensinamento e apoio;
- À professora Dra. Thaisa de Almeida Maria, pela dedicação, compreensão e sugestões;
- A todos os professores do Mestrado: Germán Arturo, Gilmar Bastos, Hugo Godinho, Leônidas Barroso, Maria Tereza, Sônia Talamoni e Robert John Young, pelas lições de saber;
- À Cledma, pela atenção, apoio e facilitações;
- Ao técnico Rogério (PUC) e a técnica Mônica (UFMG), pela confecção de lâminas histológicas;
- Aos professores Dra. Elizabeth Romagosa e Dr. Hélio Chiarini Garcia, pelas sugestões, críticas e valiosa contribuição para a conclusão dessa dissertação;
- Ao professor Dr. Yoshimi Sato (CODEVASF/CEMIG) e Dra. Elizete Rizzo (UFMG), pelo apoio e sugestões;
- Ao colega biólogo Marcelo Brito, pelas inúmeras coletas de gônadas e pelo apoio;
- Às colegas: Ana Teresa, Cibele, Luciana, Regianne, Taciana, Vanessa e Simone, pelo companheirismo, carinho e bate-papos;
- Às amigas Renata e Sandra, pela amizade, cumplicidade e confiança;
- Aos colegas do Mestrado: Ana Paula, Guilherme, Gizelle, Irene, Joaquim, Orion, Paulo e Túlio, pela harmoniosa convivência;
- À amiga Stael, pelo carinho e colaboração;
- Aos estagiários do Laboratório de Ictiologia do Mestrado em Zoologia (Puc Minas), pelo apoio e incentivo;
- Aos colegas Rubens e Geraldo, pela ajuda significativa e pelo incentivo;

- Ao Jefferson e ao Giovanni, pelo carisma e apoio;
- À Iva, pelos momentos de descontração;
- Ao técnico Edson Margarida, pela atenção e auxílio;
- Às técnicas do CEMEL/UFMG, que contribuíram para a realização de parte deste trabalho;
- À Helena e à Lúcia, por propiciar um ótimo ambiente de trabalho e pelo carisma;
- Aos meus irmãos *Alessandro* e *Felipe* e à minha cunhada, *Amanda*, pela força, apoio e quebra-galhos;
- À minha querida avó *Eurides*, pela preocupação constante com meu bem-estar e carinho;
- Aos meus sogro e sogra *Luiz Gonzaga* e *Marlene*, pelo apoio, carinho e amizade, pelos quais tenho grande admiração;
- À CAPES, pela bolsa concedida;
- Aos pirás, que possibilitaram a realização desse projeto;
- Enfim, a todos vocês que sempre me apoiaram e torceram por mim. . .

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Animais	19
2.2 Microscopia de luz	19
2.3 Microscopia eletrônica de transmissão	19
2.4 Determinação dos estádios do ciclo reprodutivo e tipo de desova	20
2.5 Índices biológicos.....	20
2.6 Análise estatísticas.....	20
3 RESULTADOS	22
3.1 Morfologia dos ovários	22
3.2 Ovogênese	22
3.3 Folículos pós-ovulatórios e atrésicos	22
3.4 Morfologia dos testículos	22
3.5 Espermatogênese	23
3.6 Ducto espermático e papila urogenital	24
3.7 Estádios do ciclo reprodutivo e tipo de desova	24
3.8 Índices biológicos	25
4 DISCUSSÃO	50
4.1 Morfologia das gônadas	50
4.2 Gametogênese	50
4.3 Ducto espermático e papila urogenital	53
4.4 Estádios do ciclo reprodutivo e tipo de desova	53
4.5 Índices biológicos	53
5 CONCLUSÕES	55
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Vista parcial do rio São Francisco, entre as cidades de Pirapora e Buritizeiro, MG..	18
Figura 2- <i>Conorhynchus conirostris</i> Valenciennes, 1840	18
Figura 3- Localização geográfica do trecho de coleta no rio São Francisco, entre as cidades de Pirapora e São Romão, MG.	21
Figura 4- Secção transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> com ninho de ovogônias (OV). HE 1000x.....	27
Figura 5- Secção transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> com ovócitos jovens (O1) e pré-vitelogênicos (O2) com núcleo vitelínico (seta). Observe túnica albugínea espessa (asterisco). HE 430x.....	27
Figura 6- Secção transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> evidenciando ovócito com vesículas corticais (O3). HE 210x.....	28
Figura 7- Secção transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> com ovócito vitelogênico (O4) em fase inicial. Observe teca com intensa vascularização sangüínea (seta). HE 210x.	28
Figura 8- Secção transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> evidenciando ovócito vitelogênico (O4) com células foliculares(CF) prismáticas. HE 210x.....	29
Figura 9- Detalhe do aparelho micropilar em O4 de <i>C. conirostris</i> . HE 1000x.....	29
Figura 10- Detalhe de folículo pós-ovulatório de <i>C. conirostris</i> . HE 210x.....	30
Figura 11- Detalhe de folículo atrésico de <i>C. conirostris</i> . HE 210x.....	30
Figura 12- Exemplar macho de <i>C. conirostris</i> do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, evidenciando testículo franjado (seta) na cavidade celômica.....	30
Figura 13- Organização testicular de <i>C. conirostris</i> HE 50x.....	31
Figura 14-Corte transversal de testículos de <i>C. conirostris</i> com cistos das células da linhagem espermatogênica HE 1000x.....	32
Figura 15- Ultra-estrutura de células da linhagem espermatogênica de <i>C. conirostris</i> . 4800x.	33
Figura 16- Ultra-estrutura das células de Sertoli. 5300x.....	34
Figura 17- Ultra-estrutura da célula de Leydig 9000x.....	34
Figura 18-Ultra-estrutura de espermátides 19000x.....	35
Figura 19-Ultra-estrutura de espermatozóides 17000x.....	35
Figura 20- Ducto espermático em testículos de <i>C. conirostris</i>	36

Figura 21- Ultra-estrutura do ducto espermático. 3000x.....	
Figura 22-Detalhe de espermatozóides (Z) no lume do ducto espermático próximo às células epiteliais de revestimento 20000x.....	37
Figura 23-Papila urogenital de macho de <i>C. conirostris</i> AT 1000x.....	38
Figura 24- Ultra-estrutura da papila urogenital de macho de <i>C. conirostris</i> 3200x.....	39
Figura 25- Corte transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> no estágio 1 (repouso) HE 100x.....	41
Figura 26-Corte transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> no estágio 2 (maturação inicial) HE 100x.....	41
Figura 27-Corte transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> no estágio 3 (maturação avançada/maduro) HE 100x.....	42
Figura 28- Corte transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> no estágio 4 (desovado). HE 100x.....	42
Figura 29-Corte transversal de ovários de <i>C. conirostris</i> no estágio 4 (desovado) com folículos pós-ovulatórios (asterisco) e folículos atrésicos (FA). HE 100x.....	43
Figura 30-Corte transversal de testículos de <i>C. conirostris</i> no estágio 1 (repouso) HE 1000x..	43
Figura 31-Corte transversal de testículos de <i>C. conirostris</i> no estágio 2 (maturação inicial) mostrando túbulos seminíferos com pequena quantidade de espermatozóides (Z) HE 100x.....	44
Figura 32-Corte transversal de testículos de <i>C. conirostris</i> no estágio3 (maturação avançada/maduro) mostrando túbulos seminíferos repletos de espermatozóides (Z) HE 100x.....	44
Figura 33-Corte transversal de testículos de <i>C. conirostris</i> no estágio 3 (maturação avançada/maduro) com ducto espermático (DE) repleto de espermatozóides HE 100x.....	45
Figura 34-Corte transversal de testículos de <i>C. conirostris</i> no estágio 4 (esgotado) contendo pequena quantidade de espermatozóides (Z) residuais HE 100x.....	45
Figura 35-Frequência relativa bimestral dos estádios do ciclo reprodutivo de fêmeas e machos de <i>C. conirostris</i> , do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.....	47
Figura 36-Valores médios e respectivos desvios-padrão dos índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), de repleção estomacal (IRE), de gordura celômica (IGC) e fator de condição (K), por estágio do ciclo reprodutivo, de fêmeas e machos de <i>C. conirostris</i> , do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Características histológicas dos ovócitos de <i>C. conirostris</i>	26
Tabela 2 -Características histológicas e ultra-estruturais das células espermatogênicas de <i>C. conirostris</i>	26
Tabela 3 -Características morfológicas dos estádios do ciclo reprodutivo (ECR) de fêmeas e machos de <i>C. conirostris</i> , do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.....	40
Tabela 4 -Distribuição bimestral das freqüências absoluta (Fa) e relativa (Fr) dos estádios do ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>C. conirostris</i> do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.....	46
Tabela 5 -Distribuição bimestral das freqüências absoluta (Fa) e relativa (Fr) dos estádios do ciclo reprodutivo de machos de <i>C. conirostris</i> do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.....	46
Tabela 6 -Valores médios e respectivos desvios-padrão dos índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), repleção estomacal (IRE), gordura celômica (IGC) e fator de condição (K) por estágio do ciclo reprodutivo (ECR) de fêmeas de <i>C. conirostris</i> , do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.....	48
Tabela 7 -Valores médios e respectivos desvios-padrão dos índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), repleção estomacal (IRE), gordura celômica (IGC) e fator de condição (K) por estágio do ciclo reprodutivo (ECR) de machos de <i>C. conirostris</i> , do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.....	48

RESUMO

A biologia reprodutiva de *C. conirostris* do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, foi estudada utilizando-se 207 exemplares, sendo 92 fêmeas e 115 machos, coletados no período de dezembro de 1998 a janeiro de 2000. Fragmentos de ovários e testículos foram submetidos às técnicas de rotina para microscopias de luz e eletrônica de transmissão. A época de reprodução foi determinada pela distribuição da frequência relativa dos diferentes estádios do ciclo reprodutivo, os quais foram estabelecidos através da morfologia macroscópica e microscópica das gônadas. Foi feito um estudo histológico da gametogênese e uma análise ultra-estrutural da espermatogênese e da organização morfo-funcional do ducto espermático e da papila urogenital de machos. A desova, do tipo total, foi caracterizada pela análise histológica de ovários desovados, pela distribuição das frequências dos estádios do ciclo reprodutivo e pelas variações do índice gonadossomático (IGS). Na maturação avançada, o IGS apresentou-se mais alto, enquanto o índice de repleção estomacal (IRE) e de gordura celômica (IGC) apresentaram-se mais baixos.

ABSTRACT

A study was made of the reproductive biology of *C. conirostris* from São Francisco river, Pirapora's region, Minas Gerais state, Brazil. 92 females and 115 males specimens were captured in the period between December, 1998 and January, 2000. The reproductive period was determined through the distribution of relative frequency of the stages of the reproductive cycle, established on the macro- and microscopic morphology of the gonads. A histological and ultrastructural study of the gametogenesis and morpho-functional organization of the spermatic duct and urinogenital papilla was made. Spawning of the total type was characterized by histological analysis of spawned ovaries, by distribution of the frequency of the stages of the reproductive cycle and by variation in the gonadosomatic index (GSI). During gonadal maturation, the highest value of GSI and the lowest values of stomach repletion index (SRI) and coelomic fat index (CDI) occurred.

1 INTRODUÇÃO

As águas do São Francisco (Fig. 1), rio da unidade nacional, são utilizadas para geração de energia, irrigação, navegação e abastecimentos industrial e urbano. O rio São Francisco foi, historicamente, uma das principais fontes brasileiras de pescado (MENEZES, 1973), porém, dados recentes indicam que essa produção vem diminuindo drasticamente nas últimas décadas (GODINHO, 2000).

A espécie *Conorhynchus conirostris* (Fig. 2) considerada símbolo do rio São Francisco por ser endêmica da bacia e monoespecífica, pertence à ordem Siluriformes e família Pimelodidae e é popularmente conhecida como pirá na região de Pirapora. Pode alcançar até 100cm de comprimento total e 13kg de peso corporal (SATO, 1999). É peixe de piracema, de interesse comercial e está incluído na lista de espécies presumivelmente ameaçadas de extinção na bacia do São Francisco (LINS *et al.*, 1997) e praticamente extinto a montante da represa de Três Marias (SATO *et al.*, 1987).

O desenvolvimento dos ovócitos de teleósteos apresenta variações nos diferentes grupos de peixes e a determinação da dinâmica da ovogênese permite a compreensão dos processos de maturação e fertilização (SELMAN & WALLACE, 1989).

Testículos de teleósteos apresentam um compartimento tubular que é constituído pelas células de Sertoli e células germinativas e um compartimento intersticial que é formado por tecido conjuntivo e células de Leydig (GRIER, 1981).

Siluriformes podem apresentar, na região caudal dos testículos, vesículas seminais ou estruturas acessórias que possuem ou não atividade secretora (LOIR *et al.*, 1989). Alguns pimelodídeos, quando em atividade reprodutiva, apresentam testículos franjados cujas populações de células da linhagem espermatogênica desenvolvem-se assincronicamente nas franjas (BAZZOLI *et al.*, 1997).

A determinação dos estádios do ciclo reprodutivo é fundamental para se compreender o comportamento de uma espécie dentro de seu habitat. Sendo assim, conhecer estratégias e táticas do ciclo de vida dos peixes permite compreender melhor como esses se adaptam a ambientes e como interagem com os fatores bióticos e abióticos do meio em que vivem (VAZZOLER, 1996).

O tipo de desova de peixes é o modo pelo qual as fêmeas liberam ovócitos dentro de um período reprodutivo, constituindo uma tática para garantir a sobrevivência de seus descendentes (VAZZOLER, 1996). A desova total, geralmente, está associada a ambientes com variações sazonais marcantes (LAMAS, 1993), sendo característica de espécies de grande porte que realizam migrações reprodutivas (BAZZOLI, 2002).

Devido à importância do *C. conirostris* no rio São Francisco, o presente trabalho visa estudar sua biologia reprodutiva com os seguintes objetivos:

- Analisar histologicamente a gametogênese;
- Analisar a ultra-estrutura da espermatogênese;
- Analisar, em níveis histológico e ultra-estrutural, a organização morfofuncional do ducto espermático e da papila urogenital;
- Estabelecer, através de análise macroscópica e microscópica, os estádios do ciclo reprodutivo de fêmeas e de machos;
- Determinar o tipo de desova;
- Determinar, por estágio do ciclo reprodutivo, os índices biológicos: gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), de repleção estomacal (IRE), de gordura celômica (IGC) e o fator de condição (K).



Figura 1- Vista parcial do rio São Francisco, entre as cidades de Pirapora e Buritizeiro, MG (Cortesia de M.F.G. Brito).



Figura 2- *Conorhynchus conirostris* Valenciennes, 1840.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Exemplares de *C. conirostris* Valenciennes, 1840 (Pisces: Pimelodidae) foram capturados no período de dezembro de 1998 a janeiro de 2000, no rio São Francisco, região de Pirapora, MG (17°20'45"S e 44°56'55"W) (Fig. 3), totalizando 207 peixes sendo 92 fêmeas e 115 machos.

2.2 Microscopia de luz

Fragmentos de gônadas foram fixados em líquido de Bouin por 4 a 12 horas e submetidos às técnicas histológicas de rotina: inclusão em parafina e glicol metacrilato, microtomia com cortes de 3 a 5 µm de espessura e coloração com hematoxilina-eosina (HE), tricrômico de Gomori (TG) e azul de toluidina-borato de sódio (AT). A análise do conteúdo de carboidratos e proteínas das células calciformes da papila urogenital de machos foi feita através das seguintes técnicas histoquímicas, de acordo com PEARSE (1985): ácido periódico-Schiff (PAS) para carboidratos com 1:2 grupos glicol (glicogênio, glicoproteínas neutras e sialomucinas), amilase salivar para digestão de glicogênio, seguida de PAS, Alcian blue (AB) pH 2,5 para glicoconjugados ácidos carboxilados e sulfatados incluindo sialomucinas, AB pH 0,5 para glicoconjugados sulfatados e ninhidrina-Schiff para radical -NH₂ de proteínas.

2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Fragmentos de testículos foram fixados em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,3 por 12h a 4°C. As amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato 0,1M por desidratadas em série crescentes de álcoois e incluídas em Epon. Cortes ultrafinos foram obtidos com navalha de diamante e contrastados com solução aquosa de acetato de uranila a 1% por 30' e solução de Reynolds, por 5' e fotografadas ao microscópio eletrônico EM-10 ZEISS.

2.4 Determinação dos estádios do ciclo reprodutivo e tipo de desova

A determinação dos estádios do ciclo reprodutivo baseou-se na análise macroscópica e microscópica das gônadas e na distribuição de células das linhagens ovogênica e espermatogênica, segundo BAZZOLI (2002).

Após determinação dos estádios do ciclo reprodutivo, calcularam-se as frequências bimestrais, absoluta e relativa, por estágio do ciclo reprodutivo, de fêmeas e macho.

O tipo de desova foi determinado pela distribuição das frequências dos estádios do ciclo reprodutivo de fêmeas, pelas variações do índice gonadossomático e pelas características histológicas de ovários desovados (BAZZOLI & GODINHO, 1991).

2.5 Índices biológicos

De cada exemplar foram obtidos dados do comprimento total (CT) em cm, comprimento padrão (CP) em cm e peso corporal (PC) em g. Após evisceração, foram feitas sexagem e determinação macroscópica do estágio do ciclo reprodutivo. As vísceras foram acondicionadas em bombonas contendo formol a 10% e dissecadas. Registraram-se os pesos, em gramas, de: gônadas (PG), fígado (PF), estômago (PE) e gordura celômica (PGC). A partir dos dados biométricos obtidos, calcularam-se, para cada exemplar, os índices: gonadossomático ($IGS = PG \times 1000/PC$), hepatossomático ($IHS = PF \times 1000/PC$), de repleção estomacal ($IRE = PE \times 1000/PC$), de gordura celômica ($IGC = PGC \times 1000/PC$) e fator de condição ($K = PC \times 1000/CP^3$). A partir desses índices, determinaram-se as médias por estágio do ciclo reprodutivo de fêmeas e de machos.

2.6 Estrutura populacional e proporção sexual

Os valores de CT, CP e PC foram utilizados para determinar os maiores e os menores exemplares fêmeas e machos capturados e a proporção sexual.

2.7 Análises estatísticas

Análise de variância ANOVA (SAS INSTITUTE INC., 1985) foi utilizada para testar variações nos valores médios dos índices calculados por estágio do ciclo reprodutivo e por sexo. O teste de DUNCAN (SAS INSTITUTE INC., 1985) foi aplicado para comparar esses índices médios, quando registraram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).



Figura 3- Localização geográfica do trecho de coleta no rio São Francisco, entre as cidades de Pirapora e São Romão, MG. (PAIVA & BASTOS, 1982).

3 RESULTADOS

3.1 Morfologia dos ovários

Ovários de *C. conirostris* são órgãos pares, saciformes e sustentados dorsalmente na cavidade celômica pelo mesovário. Ovários direito e esquerdo unem-se na extremidade caudal para formar o ducto ovariano, que se comunica com a papila urogenital. A forma, o volume, a coloração e a irrigação sanguínea dos ovários variam nos diferentes estádios do ciclo reprodutivo.

Histologicamente, os ovários são revestidos pela túnica albugínea, constituída de tecido conjuntivo, fibras musculares lisas e vasos sanguíneos. Essa túnica emite septos em direção ao lume, formando lamelas ovulíferas, nas quais encontram-se ovócitos nas diferentes fases de desenvolvimento.

3.2 Ovogênese

A ovogênese inicia-se com a proliferação e diferenciação de ovogônias. Essas células germinativas primordiais formam ninhos (Fig. 4) e apresentam citoplasma escasso, núcleo vesiculoso com nucléolo proeminente e originam ovócitos jovens (O1), pré-vitelogênicos (O2), com vesículas corticais (O3) e vitelogênicos (O4) (Tabela 1) (Figs. 5-9).

3.3 Folículos pós-ovulatórios e atrésicos

Folículos pós-ovulatórios são estruturas remanescentes nos ovários pós-ovulação. Apresentam lume amplo, irregular, parede constituída de camada única de células foliculares prismáticas e teca conjuntiva muito vascularizada (Fig. 10).

O processo de atresia pode ocorrer em O3 e em O4 não desovados, sendo caracterizado por fendas na zona pelúcida, hipertrofia das células foliculares, liquefação do vitelo e reabsorção do conteúdo ovular pelas células foliculares (Fig. 11).

3.4 Morfologia dos testículos

Testículos de *C. conirostris* são órgãos pares localizados na cavidade celômica e sustentados dorsalmente pelo mesórquio. Apresentam uma porção central e contínua, da qual partem franjas digitiformes (Fig. 12) que se comunicam com o ducto espermático, o qual se abre no exterior através da papila urogenital. A forma, o volume, a coloração e a irrigação sangüínea também variam nos diferentes estádios do ciclo reprodutivo.

Histologicamente, os testículos são revestidos pela túnica albugínea, constituída de tecido conjuntivo, fibras elásticas, nervos e vasos, a qual emite septos para o interior do órgão, delimitando lóbulos que são preenchidos por túbulos seminíferos, constituídos de cistos (Fig. 13A-B-C). No interior de cada cisto, encontram-se células da linhagem espermatogênica na mesma fase de desenvolvimento. A parede dos cistos é formada por prolongamentos citoplasmáticos das células de Sertoli (Fig. 14 e 15) que, ao microscópio de luz, mostram citoplasma pouco evidente, núcleo triangular e vesiculoso e ao microscópio eletrônico de transmissão, o citoplasma apresenta-se repleto de mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi. As células de Sertoli unem-se umas às outras através de estruturas juncionais (Fig.16).

No tecido intersticial estão presentes células de Leydig, (Figs. 14 e 17) fibroblastos/fibrócitos, células mióides, fibrilas colágenas e capilares sanguíneos. As células intersticiais ou de Leydig, ao microscópio de luz, são arredondadas ou poliédricas, possuem núcleo grande, vesiculoso com cromatina em pequenos grumos e citoplasma acidófilo e ao microscópio eletrônico de transmissão, mostram citoplasma com retículo endoplasmático liso e mitocôndrias com cristas tubulares.

3.5 Espermatogênese

Durante a espermatogênese de *C. conirostris* identificaram-se as seguintes células germinativas: espermatogônias primárias (G1), espermatogônias secundárias (G2), espermatócitos primários (C1), espermatócitos secundários (C2), espermátides (T) e espermatozóides (Z) cujas características histológicas e ultra-estruturais encontram-se descritas na Tabela 2 e demonstradas nas figuras 14, 15, 18 e 19.

3.6 Ducto espermático e papila urogenital

Ao microscópio de luz, a parede do ducto espermático apresenta-se constituída de epitélio simples prismático apoiado em camada de natureza conjuntiva com numerosas fibrilas colágenas e células musculares lisas (Fig. 20A-B-C). Ao microscópio eletrônico de transmissão, a parede do ducto espermático apresenta células epiteliais com microvilosidades (Fig. 21), núcleo vesiculoso e citoplasma rico em retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias, complexo de Golgi e lisosomas. No lume do ducto espermático observaram-se espermatozóides sendo envoltos por prolongamentos citoplasmáticos das células epiteliais e grânulos de secreção (Fig. 22).

A parede da papila urogenital constitui-se de epitélio simples prismático com células caliciformes e lâmina própria de natureza conjuntivo-muscular. As células caliciformes, à microscopia de luz, apresentam conteúdo pouco ou muito corado (Fig. 23A-B). Ultra-estruturalmente, as células epiteliais de revestimento da papila urogenital possuem microvilosidades, núcleo vesiculoso e citoplasma com organelas de síntese protéica: retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias e complexo de Golgi. O conteúdo das células caliciformes mostra-se elétron-denso ou elétron-lúcido (Fig. 24A). Células musculares lisas são abundantes na lâmina própria da papila urogenital (Fig. 24B). Reações histoquímicas indicaram que células caliciformes contêm glicoproteínas neutras associadas a glicoconjugados ácidos carboxilados por serem positivas ao PAS, ninhidrina Schiff e Alcian Blue pH 0,5 e 2,5.

3.7 Estádios do ciclo reprodutivo e tipo de desova

Estabeleceram-se os seguintes estádios do ciclos reprodutivos para fêmeas e machos: 1= repouso, 2 = maturação inicial, 3 = maturação avançada/maduro e 4 = desovado para fêmeas e esgotado para machos. As características morfológicas dos estádios do ciclo reprodutivo de *C. conirostris* encontram-se descritas na tabela 3 e figuras 25-34.

A análise bimestral das freqüências relativa e absoluta dos estádios do ciclo reprodutivo de *C. conirostris* mostrou que fêmeas, em atividade reprodutiva, estádios 3 e 4, ocorreram nos bimestres dezembro/janeiro e fevereiro/março. Em relação aos machos, registraram exemplares em atividade reprodutiva, estádios 3 e 4, no período

de outubro a maio. No período de junho a setembro não foram capturados fêmeas e machos de *C. conirostris* possivelmente pelo fato dos indivíduos migrarem para áreas de alimentação (Tabelas 4 e 5 e Fig. 34).

O curto período de desova, associado às características histológicas de ovários desovados, os quais apresentaram somente O1 e O2 ao lado de folículos pós-ovulatórios e atrésicos, indicaram que a desova de *C. conirostris* é do tipo total.

3.8 Índices biológicos

Os maiores valores do IGS de fêmeas e de machos foram registrados no estágio 3. O IHS de fêmeas apresentou-se mais alto no estágio 2, diminuindo gradativamente nos estágios 3 e 4. Os valores de IRE e IGC de fêmeas e de machos reduziram-se do estágio 2 para o estágio 3, enquanto os valores de K, para ambos os sexos, apresentaram variações discretas ao longo do ciclo reprodutivo. Os valores, estatisticamente significativos, dos índices IGS, IHS, IRE, IGC e K para fêmeas e machos encontram-se nas Tabelas 6 e 7 e figura 36.

3.9 Estrutura populacional e proporção sexual

Os dados relativos a estrutura populacional encontram-se na tabela 8. A proporção sexual apresentou-se próxima de 1:1, com 56% de machos e 44% de fêmeas (Gráfico 1).

Gráfico 1- Distribuição da freqüência percentual de fêmeas e machos de *C. conirostris*, do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

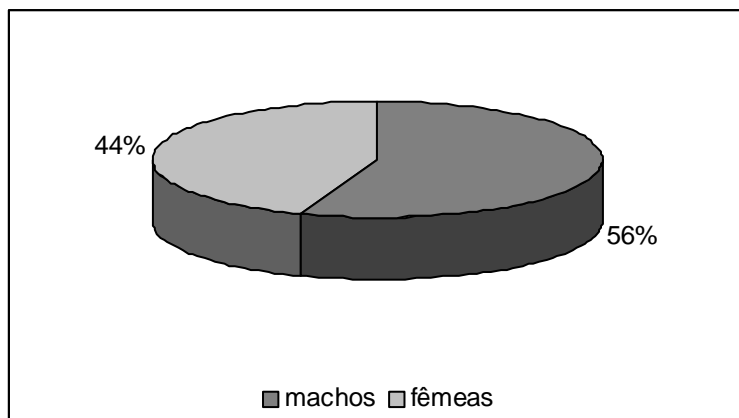


Tabela 1- Características histológicas das células da linhagem ovogênica de *C. conirostris*.

Células	Citoplasma	Núcleo	Parede Folicular
Ov	escasso	Vesiculoso com nucléolo proeminente	ausente
O1	homogêneo, basófilo	central, vesiculoso com nucléolos periféricos	CF pavimentosas; ZP não visualizada.
O2	granular, basófilo presença de núcleo vitelínico	central, vesiculoso com nucléolos acolados ao envoltório nuclear	CF pavimentosas; Zona pelúcida delgada e pouco evidente; Teca delgada.
O3	pouco basófilo, com vesículas corticais	central, vesiculoso com nucléolos distribuídos aleatoriamente	CF cúbicas; ZP delgada; Teca delgada.
O4	repleto de grânulos de vitelo acidófilos	presença de nucléolos dispersos	CF prismáticas; ZP delgada com 2 camadas Teca muito vascularizada.

Ov= ovogônias; O1= ovócitos jovens; O2= ovócitos pré-vitelogênicos; O3= ovócitos com vesículas corticais e O4= ovócitos vitelogênicos; CF= células foliculares; ZP= zona pelúcida

Tabela 2-Características histológicas e ultra-estruturais das células da linhagem espermato gênica de *C. conirostris*.

Células	Morfologia
Espermatogônias (G)	<i>Primárias</i> (G1): isoladas, citoplasma abundante e elétron-lúcido, núcleo esférico, central e com nucléolo evidente; <i>Secundárias</i> (G2): ninhos de 2 a 4 células, citoplasma escasso, núcleo esférico com um ou dois nucléolos. Mitocôndrias isoladas ou unidas por cimento (nuage) nos dois tipos celulares.
Espermatócitos (C)	<i>Primários</i> (C1): citoplasma escasso, núcleo volumoso, central com cromatina filamentososa e característicos complexos sinaptonêmicos; <i>Secundários</i> (C2): citoplasma escasso, núcleo central com cromatina condensada em grumos.
Espermátides (T)	Citoplasma escasso com vesículas, formação da fossa de implantação e início de formação do flagelo, núcleo com cromatina em condensação.
Espermatozóides (Z)	Menores células da linhagem, citoplasma escasso, ausência de acrosoma, fossa nuclear profunda, núcleo com cromatina muito densa em forma de U invertido ou ferradura, flagelo longo com arranjo axonêmico 9+2.

Tabela 3- Características morfológicas dos estádios do ciclo reprodutivo (ECR) de fêmeas e machos de *C. conirostris*, do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

ECR	Características macroscópicas e microscópicas	
	Ovários	Testículos
1	-Esbranquiçados, delgados e com vasos sanguíneos pouco evidentes; -Histologicamente apresentam O1 e O2.	-Transparentes e com franjas reduzidas; -Túbulos seminíferos com lume fechado e parede contendo somente espermatogônias.
2	-Amarelos-claro, volumosos e vasos sanguíneos evidentes; -Presença de O1, O2, O3.	- Branco-leitosos com franjas desenvolvidas; -Cistos com células da linhagem em diferentes fases e lume dos túbulos seminíferos com pequena quantidade de espermatozóides.
3	-Amarelos, volume máximo e vasos sanguíneos proeminentes; -Presença de O1, O2, O3 e numerosos O4.	-Branco-leitosos com franjas bem desenvolvidas e túrgidas; -Lumes dos túbulos seminíferos e ducto espermático repleto de espermatozóides.
4	-Flácidos e hemorrágicos; -Presença de O1, O2, O3, O4, folículos pós-ovulatórios e atrésicos.	-Franjas flácidas com áreas hemorrágicas; -Lumes dos túbulos seminíferos abertos e ducto espermático com espermatozóides residuais.

1= repouso; 2= em maturação; 3=em maturação avançada/maduro; 4=desovado/esgotado.

O1=ovócito jovem; O2=ovócito pré-vitelogênico; O3=ovócito com vesículas corticais; O4=ovócito vitelogênico.

Tabela 4: Distribuição bimestral das frequências absoluta (Fa) e relativa (Fr) dos estádios do ciclo reprodutivo de fêmeas de *C. conirostris* do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

ESTÁDIOS DO CICLO REPRODUTIVO									
Bimestre/ano	F1		F2		F3		F4		Total
	Fa	Fr(%)	Fa	Fr(%)	Fa	Fr(%)	Fa	Fr(%)	
Dez/98-jan/99	18	69,0	2	8,0	3	11,5	3	11,5	26
Fev/99-mar/99	23	54,8	7	16,6	1	2,4	11	26,2	42
Abr/99-mai/99	1	100,0	--	--	--	--	--	--	01
Jun/99-jul/99	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Ago/99-set/99	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Out/99-nov/99	11	100,0	--	--	--	--	--	--	11
Dez/99-jan/00	7	58,3	2	16,7	--	--	3	25,0	12
TOTAL	60		12		5		17		92

-- exemplares não capturados, F1-fêmeas em repouso, F2-em maturação inicial, F3-em maturação avançada/maduro e F4- desovadas.

Tabela 5: Distribuição bimestral das frequências absoluta (Fa) e relativa (Fr) dos estádios do ciclo reprodutivo de machos de *C. conirostris* do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

ESTÁDIOS DO CICLO REPRODUTIVO									
Bimestre/ano	M1		M2		M3		M4		Total
	Fa	Fr(%)	Fa	Fr(%)	Fa	Fr(%)	Fa	Fr(%)	
Dez/98-Jan/99	--	--	14	29,8	25	53,2	8	17	47
Fev/99-Mar/99	1	3,3	1	3,3	25	83,4	3	10,0	30
Abr/99-Mai/99	--	--	1	11,1	2	22,2	6	66,7	9
Jun/99-Jul/99	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Ago/99-Set/99	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Out/99-Nov/99	--	--	12	52,1	11	47,9	--	--	23
Dez/99-Jan/00	--	--	--	--	4	66,6	--	33,4	6
TOTAL	1	1	28	24,3	67	58,2	19	16,5	115

---- exemplares não capturados; M1-machos em repouso, M2-em maturação inicial, M3-em maturação avançada/maduro e M4-esgotados.

Tabela 6: Valores médios e respectivos desvios-padrão dos índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), repleção estomacal (IRE), gordura celômica (IGC) e fator de condição (K) por estágio do ciclo reprodutivo (ECR) de fêmeas de *C. conirostris*, do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

ECR	N	IGS	IHS	IRE	IGC	K
F1	60	1,11±0,74 a	3,06±1,35 a	2,13±1,11 a	6,29±3,68 a	14,78±1,81 a
F2	11	1,22±0,50 a	3,65±0,98 a	1,84±0,59 a	7,44±2,59 a	14,49±0,85 a
F3	04	5,46±3,30 b	3,13±1,00 a	1,76±0,21 a	3,84±1,56 b	14,54±3,47 a
F4	17	1,69±1,05 a	2,85±1,04 a	1,71±0,48 a	8,24±4,56 a	14,56±1,55 a

N=nº de exemplares por ECR; F1=fêmeas em repouso, F2=em maturação inicial, F3=em maturação avançada/maduro e F4= desovadas. Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna são estatisticamente semelhantes (p<0,05).

Tabela 7: Valores médios e respectivos desvios-padrão dos índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), repleção estomacal (IRE), gordura celômica (IGC) e fator de condição (K) por estágio do ciclo reprodutivo (ECR) de machos de *C. conirostris*, do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

ECR	N	IGS	IHS	IRE	IGC	K
M1	02	0,49±0,17 a	3,80±0,30 a	1,83±0,29 a	3,52±1,47 a	14,69±0,36 a
M2	28	2,49±1,63 a	2,74±1,37 a	2,15±1,70 a	7,22±4,60 a	15,04±1,58 a
M3	67	4,01±3,63 b	2,98±1,03 a	1,73±1,03 a	6,87±3,13 a	14,35±1,62 a
M4	18	1,86±1,71 a	3,17±1,28 a	2,09±1,13 a	5,68±3,57 a	13,76±2,58 a

N=nº de exemplares por ECR; M1= machos em repouso, M2= em maturação inicial, M3=em maturação avançada/maduro e M4=esgotados. Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna são estatisticamente semelhantes (p<0,05).

Tabela 8- Valores de comprimento total (CT) em centímetros (cm), comprimento padrão (CP) em centímetros (cm) e peso corporal (PC) em gramas (g) de fêmeas e machos de *C. conirostris*, do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

	Fêmeas			Machos		
	CT (cm)	CP (cm)	PC (g)	CT (cm)	CP (cm)	PC (g)
Maior exemplar capturado	72,5	60,2	3100,0	70,8	64,5	3800,0
Menor exemplar capturado	37,5	29,8	380,0	34,0	28,0	300,0
Maior em maturação avançada/maduro	72,5	60,2	3100,0	60,7	52,3	1500,0
Menor em maturação avançada/maduro	62,0	51,3	1820,0	34,0	28,0	300,0

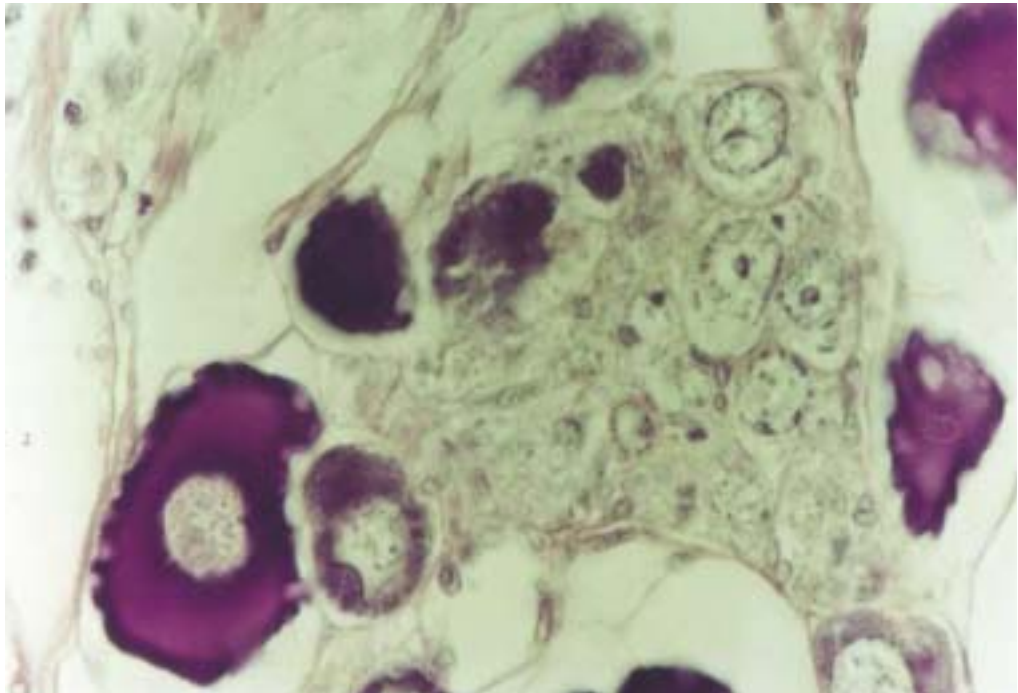


Figura 4- Secção transversal de ovário de *C. conirostris* com ninho de ovogônias (OV) e ovócitos jovens (O1). HE 1100x.

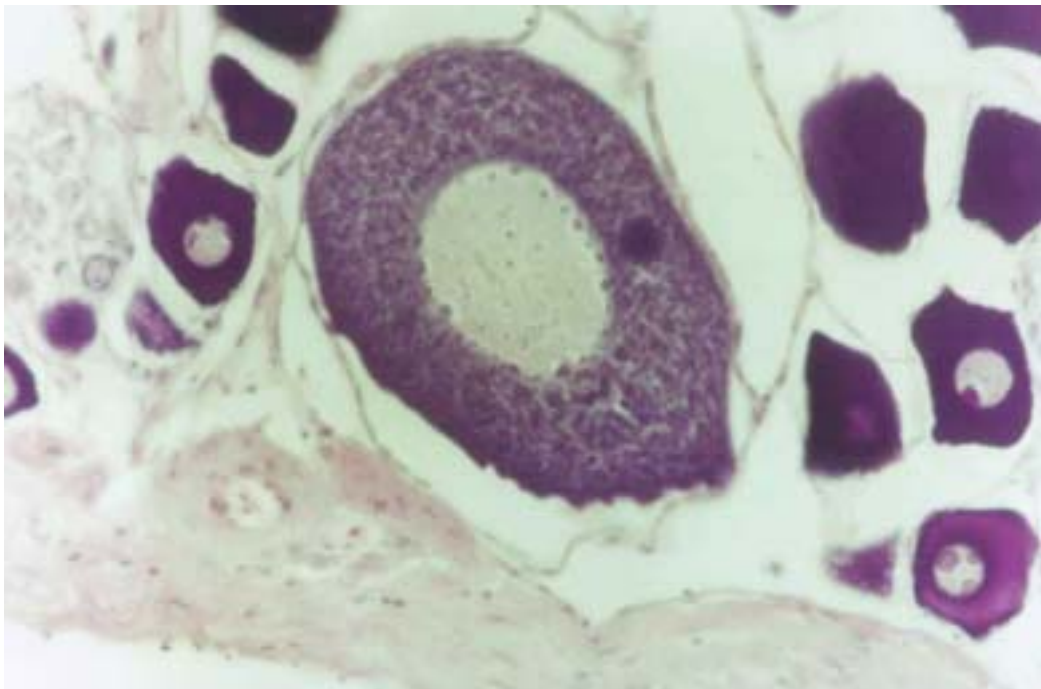


Figura 5- Secção transversal de ovário de *C. conirostris* com ovócitos jovens (O1) e pré-vitelogênicos (O2) com núcleo vitelínico (seta). Observe túnica albugínea espessa (asterisco). HE 430x.

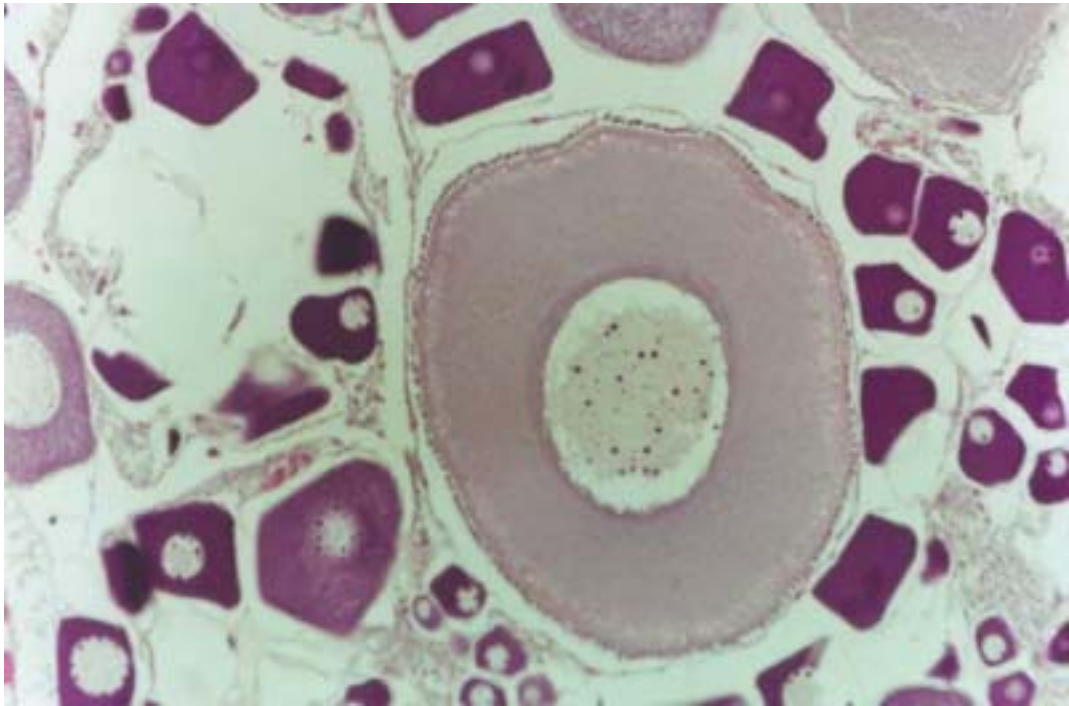


Figura 6- Secção transversal de ovário de *C. conirostris* evidenciando ovócito com vesículas corticais (O3), ovócitos pré-vitelogênicos (O2) e ovócitos jovens (O1). HE 210x.

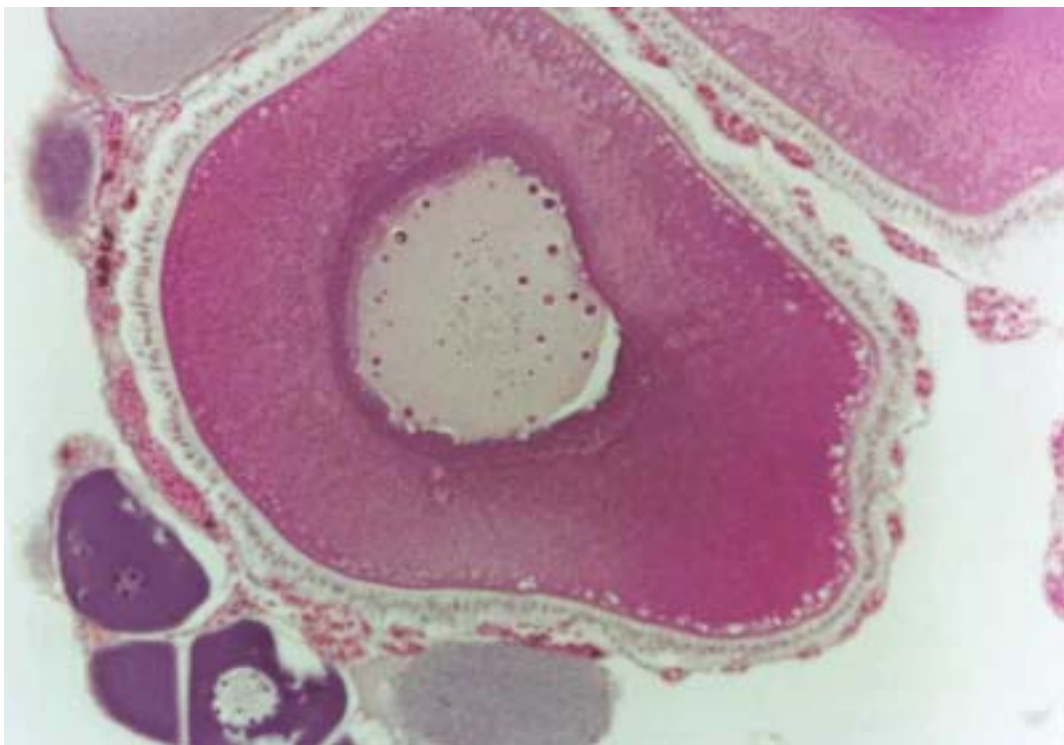


Figura 7- Secção transversal de ovário de *C. conirostris* com ovócito vitelogênico (O4) em fase inicial. Observe teca com intensa vascularização sangüínea (seta). HE 210x.

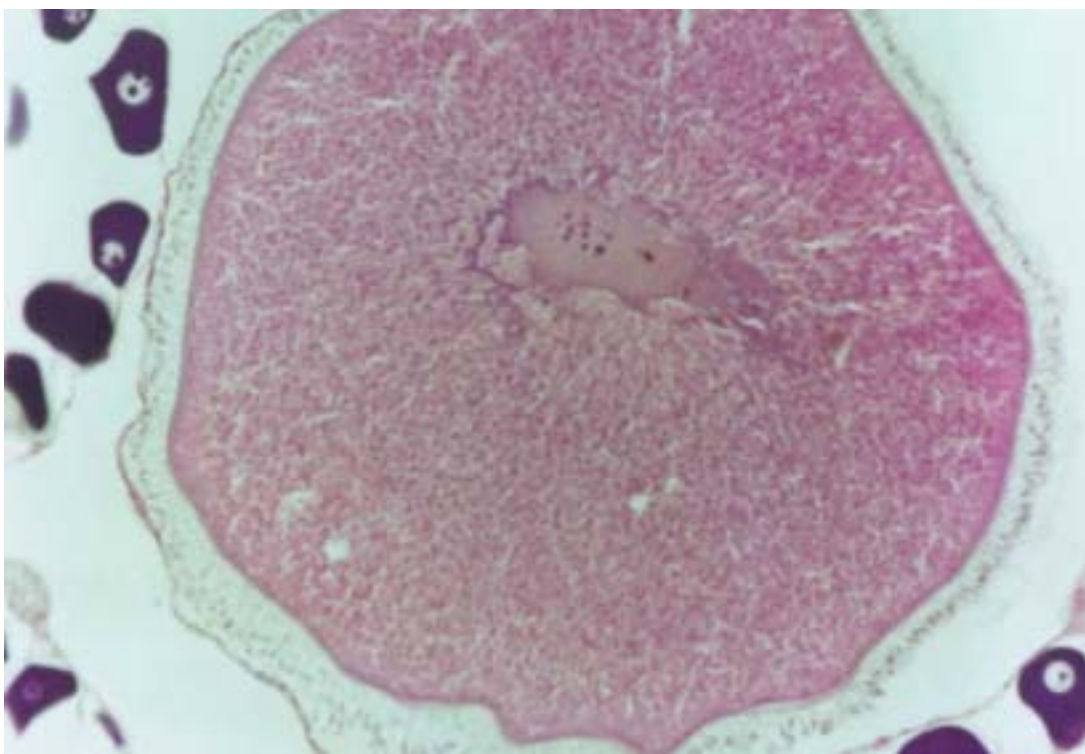


Figura 8- Secção transversal de ovário de *C. conirostris* evidenciando-se ovócito vitelogênico (O4) com células foliculares(CF) prismáticas. HE 210x.

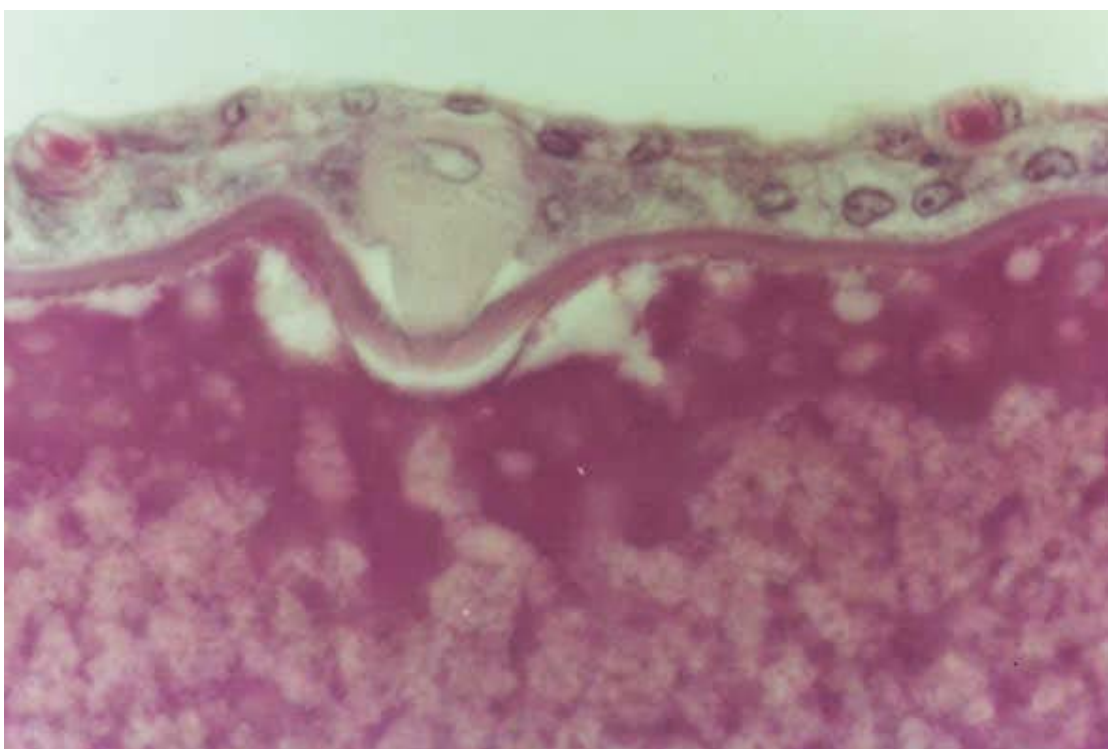


Figura 9- Detalhe do aparelho micropilar em O4 de *C. conirostris* com célula micropilar (asterisco), células foliculares (CF) e zona pelúcida (seta). HE 1100x.

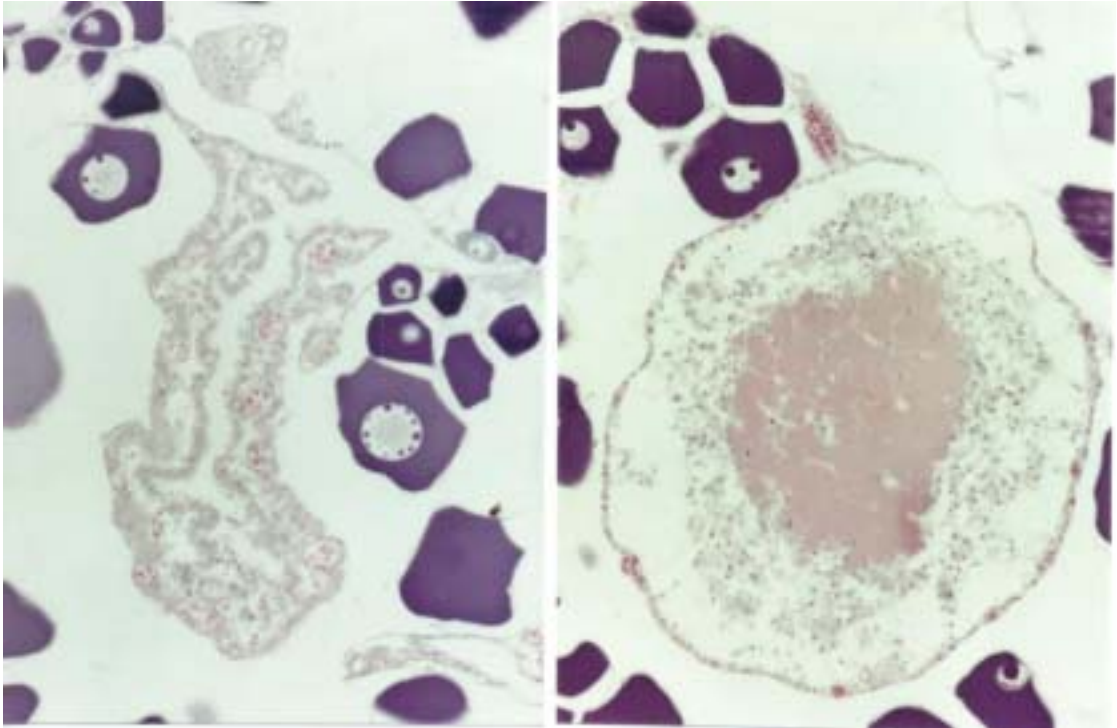


Figura 10-Detalhe de folículo pós-ovulatório com teca vascularizada (setas) de *C. conirostris*. HE 210x.

Figura 11- Detalhe de folículo atrésico com vitelo liquefeito (asterisco) de *C. conirostris*. HE 210x.

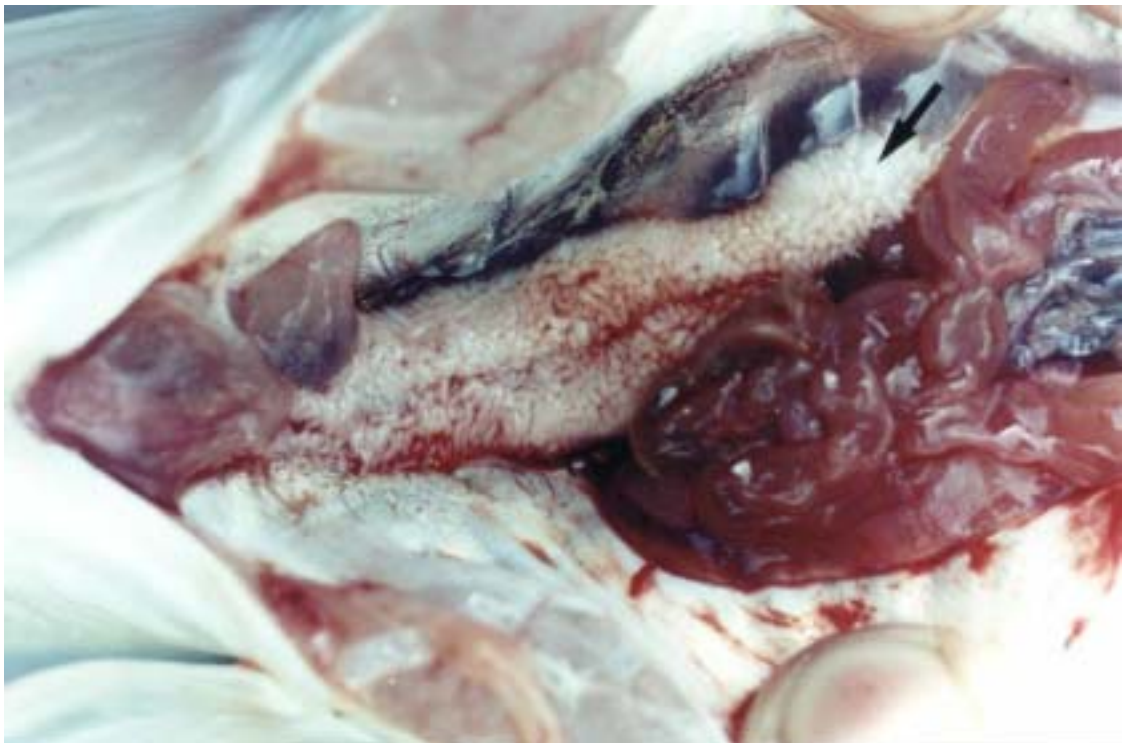


Figura 12- Exemplar macho de *C. conirostris* do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, evidenciando-se testículo franjado (seta) na cavidade celômica.

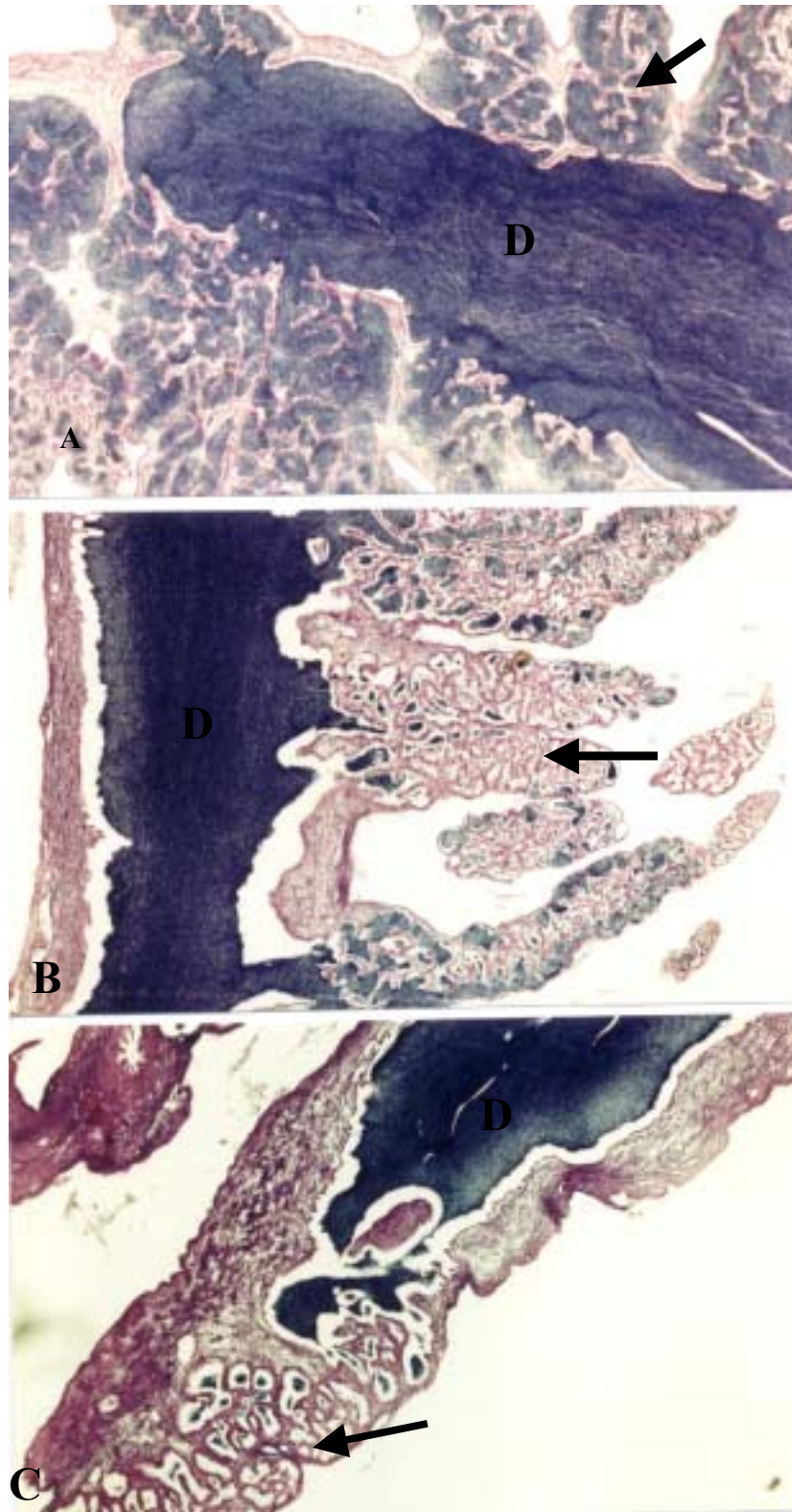


Figura 13-Organização testicular de *C. conirostris*: A- região cranial com túbulos seminíferos (seta) e ducto espermático (DE) repletos de espermatozóides B- região média com túbulos seminíferos parcialmente vazios (seta) e ducto espermático (DE) repleto de espermatozóides C- região caudal com túbulos seminíferos vazios (seta) e ducto espermático (DE) repleto de espermatozóides HE 50x.

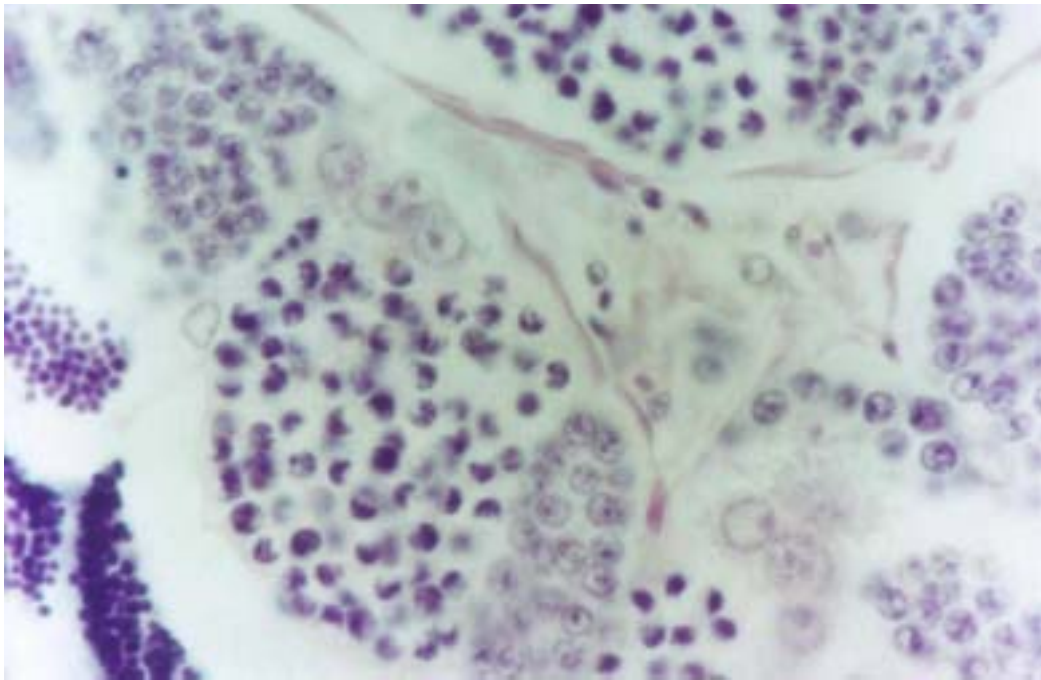


Figura 14- Corte transversal de testículo de *C. conirostris* com cistos das células da linhagem espermatogênica HE 1100x.

- G1- espermatogônia primária
- G2- espermatogônia secundária
- C1- espermatócito primário
- C2- espermatócito secundário
- T- espermátide
- Z- espermatozóide
- S- célula de Sertoli
- L- célula de Leydig

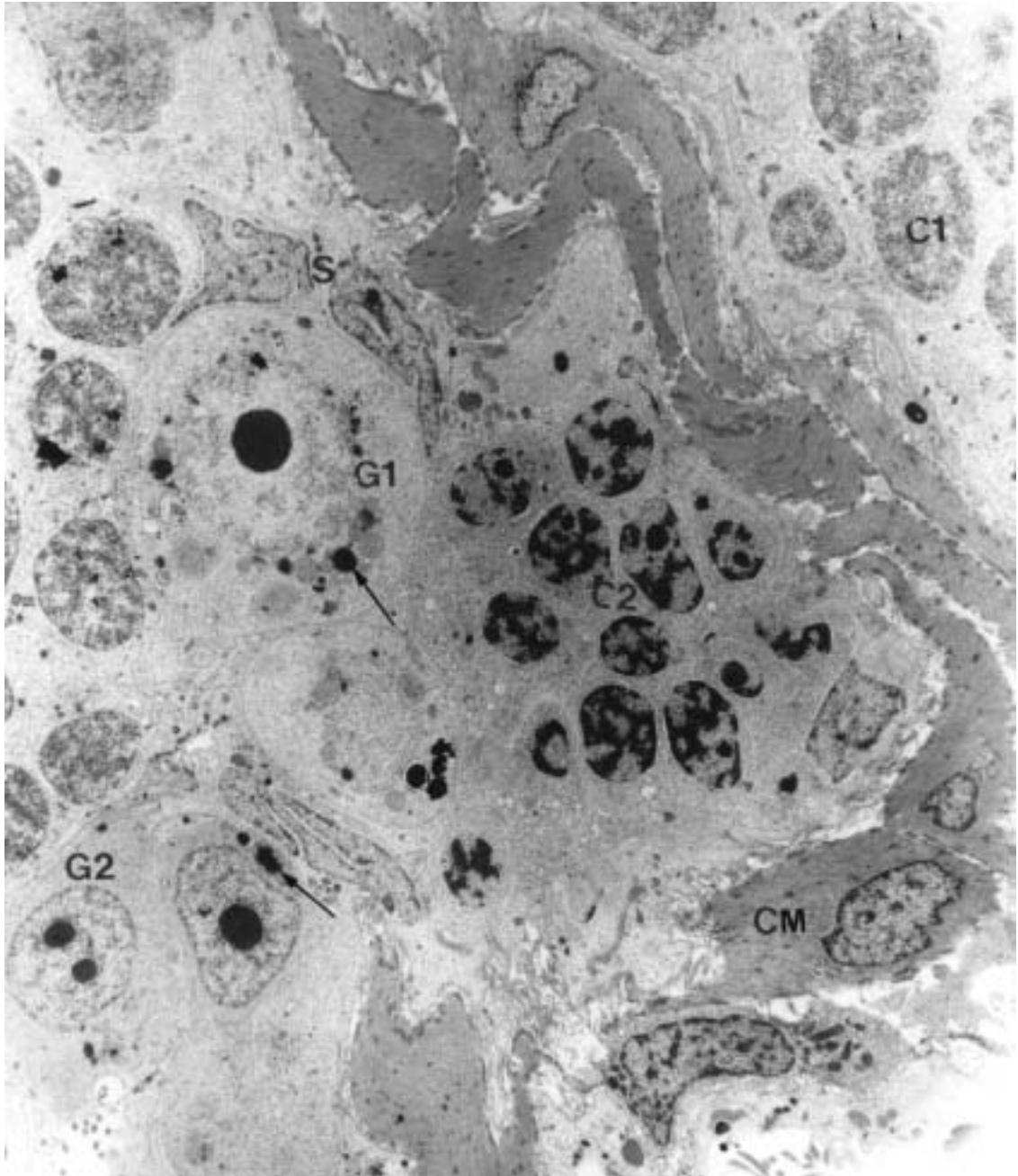


Figura 15- Ultra-estrutura de células da linhagem espermatogênica de *C. conirostris*: espermatogônias primárias (G1) e espermatogônias secundárias (G2) com característico cimento mitocondrial (seta); espermatócitos primários (C1) com complexos sinaptonêmicos (cabeça de seta) e espermatócitos secundários (C2). Observe células de Sertoli (S) e no interstício, células mióides (CM) com corpos densos. 4800x.

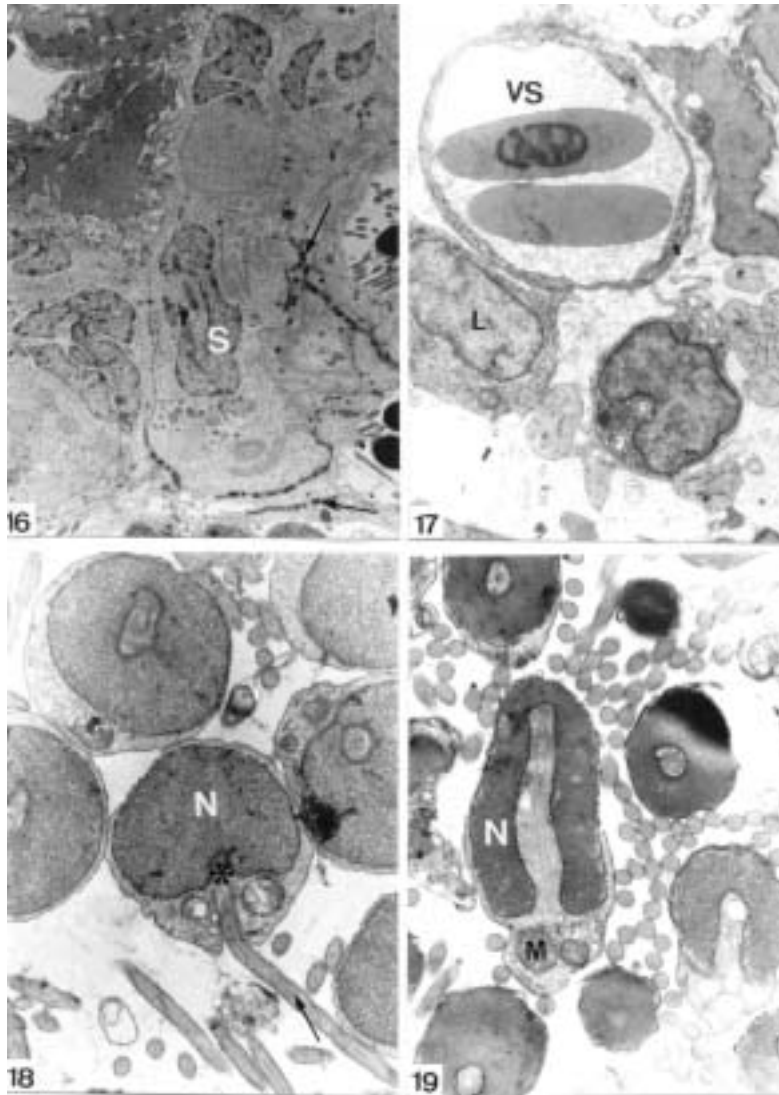


Figura 16- Ultra-estrutura das células de Sertoli (S) unidas por estruturas juncionais (setas). 5300x.

Figura 17- Ultra-estrutura da célula de Leydig (L) com núcleo vesiculoso e citoplasma com retículo endoplasmático liso (seta) e mitocôndrias (cabeça de seta). VS = vaso sanguíneo. Células do conjuntivo (asterisco) 9000x.

Figura 18- Ultra-estrutura de espermatídes com núcleo (N) em condensação, início de formação da fossa de implantação (asterisco) e flagelo longo (seta). 19000x.

Figura 19- Ultra-estrutura de espermatozóides com cabeça alongada, núcleo (N) em forma de U invertido ou ferradura e peça intermediária curta. M= mitocôndrias. 17000x.

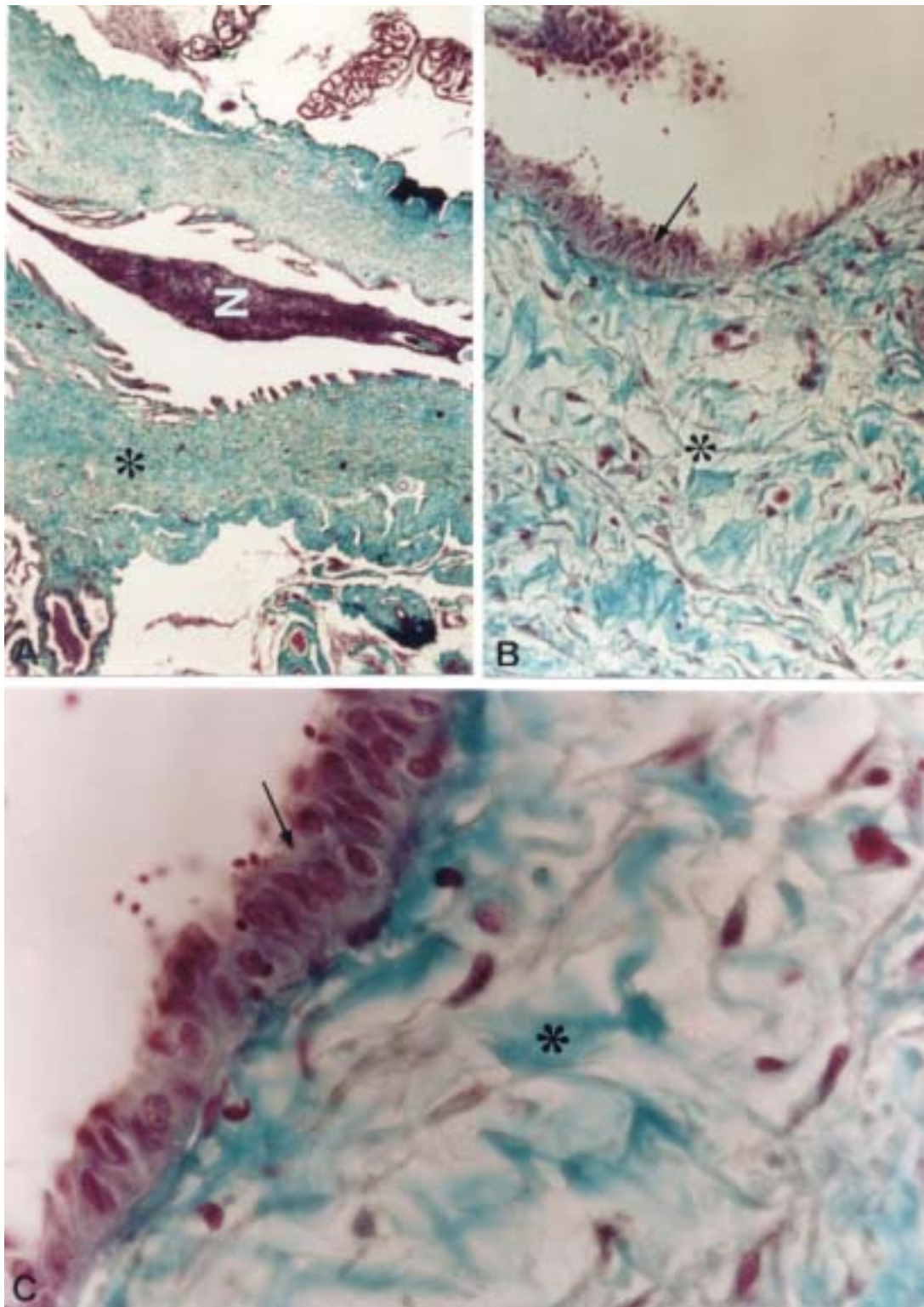


Figura 20- Ducto espermático em testículo de *C. conirostris*: A- parede espessa (asterisco) e espermatozóides (Z) no lume TG 50x; B- epitélio simples prismático (seta) e lâmina própria conjuntiva (asterisco) TG 430x; C- epitélio simples prismático (seta) e lâmina própria com fibrilas colágenas (asterisco) e células musculares lisas (seta pequena) TG 1100x.

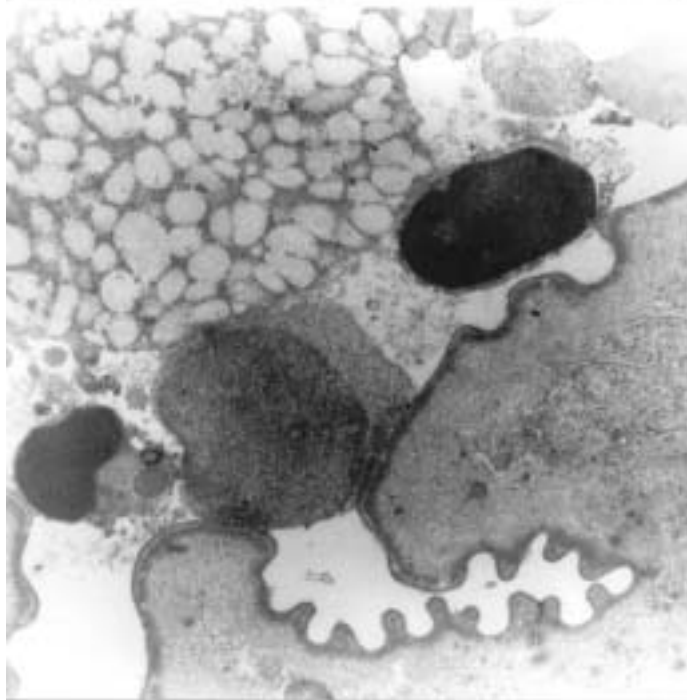
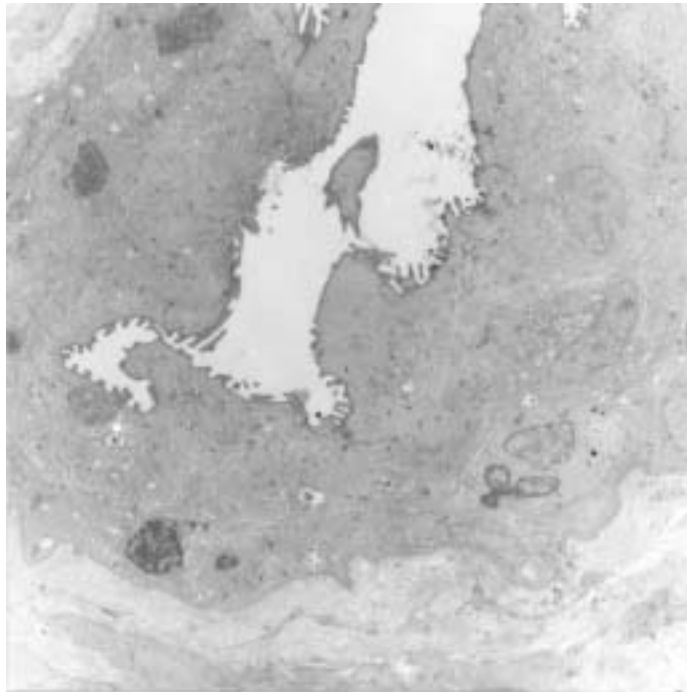


Figura 21-Ultra-estrutura do ducto espermático revestido por células epiteliais com microvilosidades (seta), núcleo (N). Lâmina própria com fibrilas colágenas (estrela) e células musculares lisas (asterisco) 3000x.

Figura 22- Detalhe de espermatozóides (Z) no lume do ducto espermático próximo às células epiteliais de revestimento prismáticas com microvilosidades (setas). Observe grânulo de secreção (asterisco) 20000x.

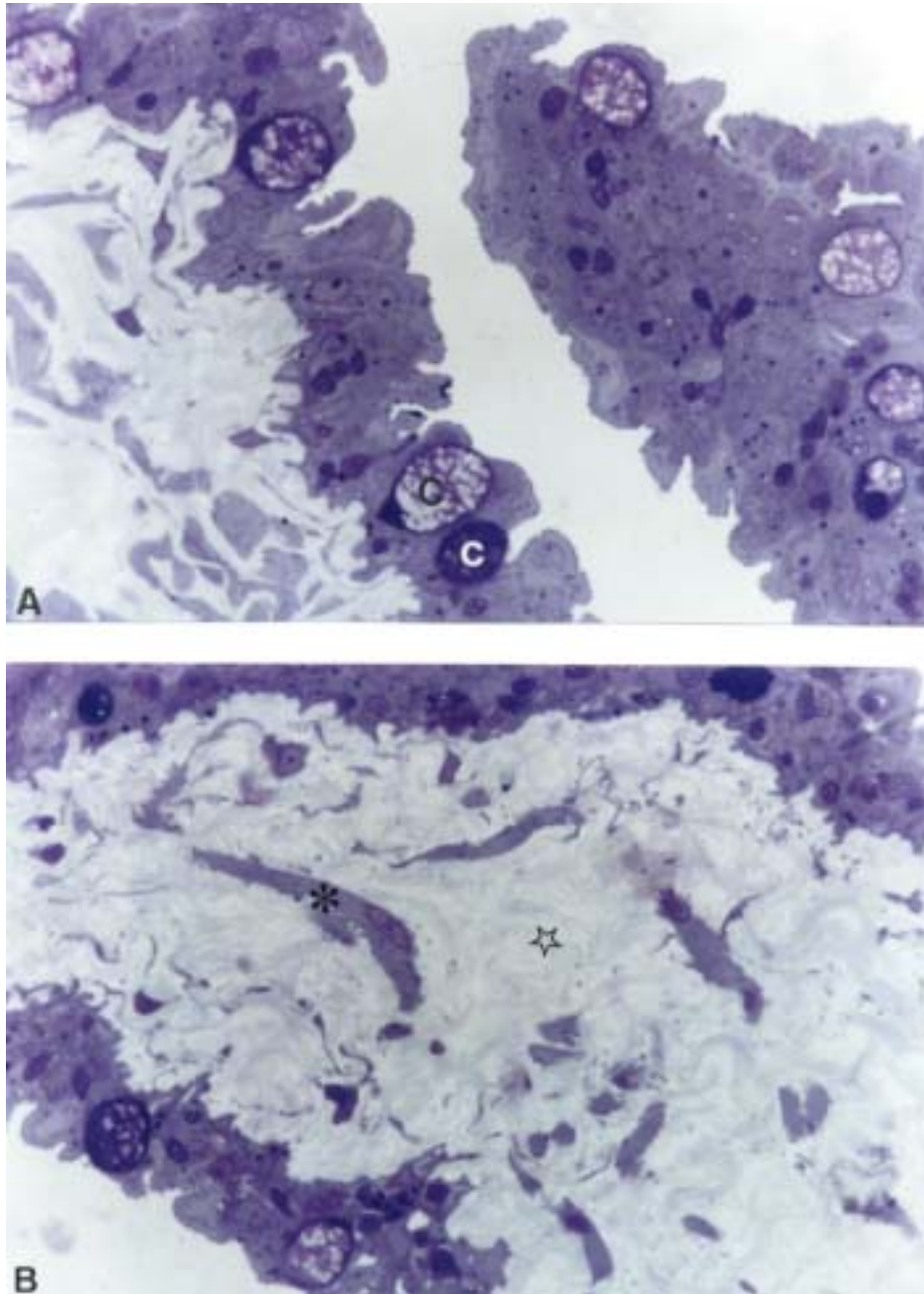


Figura 23-Papila urogenital de macho de *C. conirostris* A- epitélio simples com células caliciformes (C) em diferentes estádios funcionais AT 1100x; B- lâmina própria com fibrilas colágenas (estrela) e células musculares lisas (CM) AT 1100x.

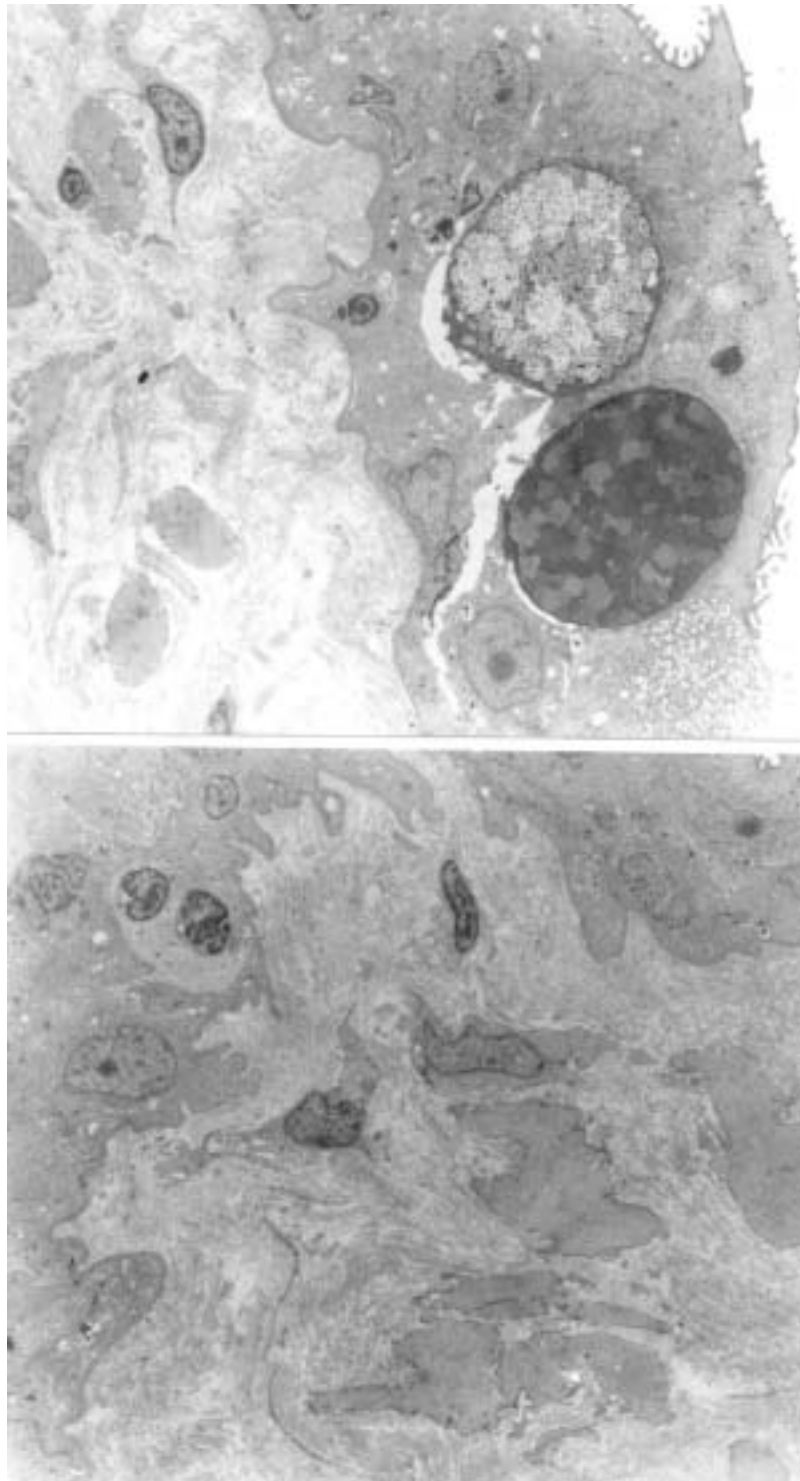


Figura 24- Ultra-estrutura da papila urogenital de macho de *C. conirostris* A- epitélio (E) simples prismático com microvilosidades e células caliciformes em diferentes estádios funcionais (C1, C2 e C3) 3200x; B- lâmina própria com fibrilas colágenas (estrela) e células musculares lisas (CM) Membrana basal evidente (setas) 3200x.

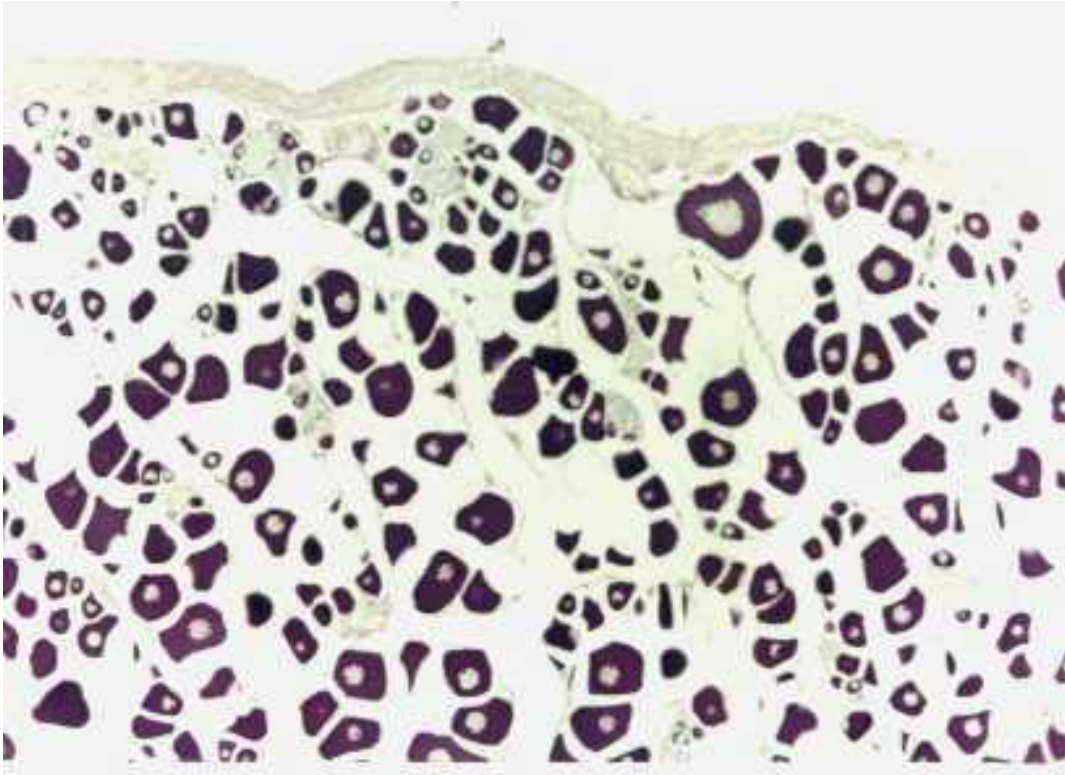


Figura 25- Corte transversal de ovário de *C. conirostris* no estágio 1 (repouso) com ovócitos jovens (O1) e ovócitos pré-vitelogênicos (O2) HE 100x.

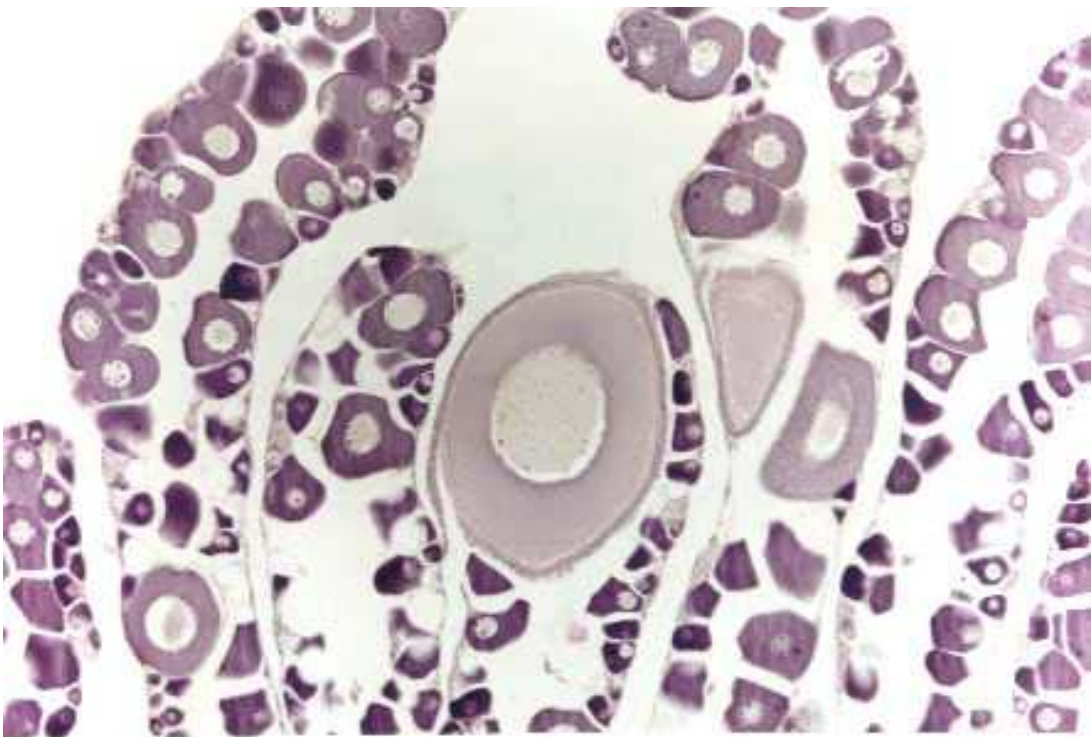


Figura 26- Corte transversal de ovário de *C. conirostris* no estágio 2 (maturação inicial) caracterizado pelo aparecimento de ovócito com vesículas corticais (O3) além dos ovócitos jovens (O1) e pré-vitelogênicos (O2) HE 100x.

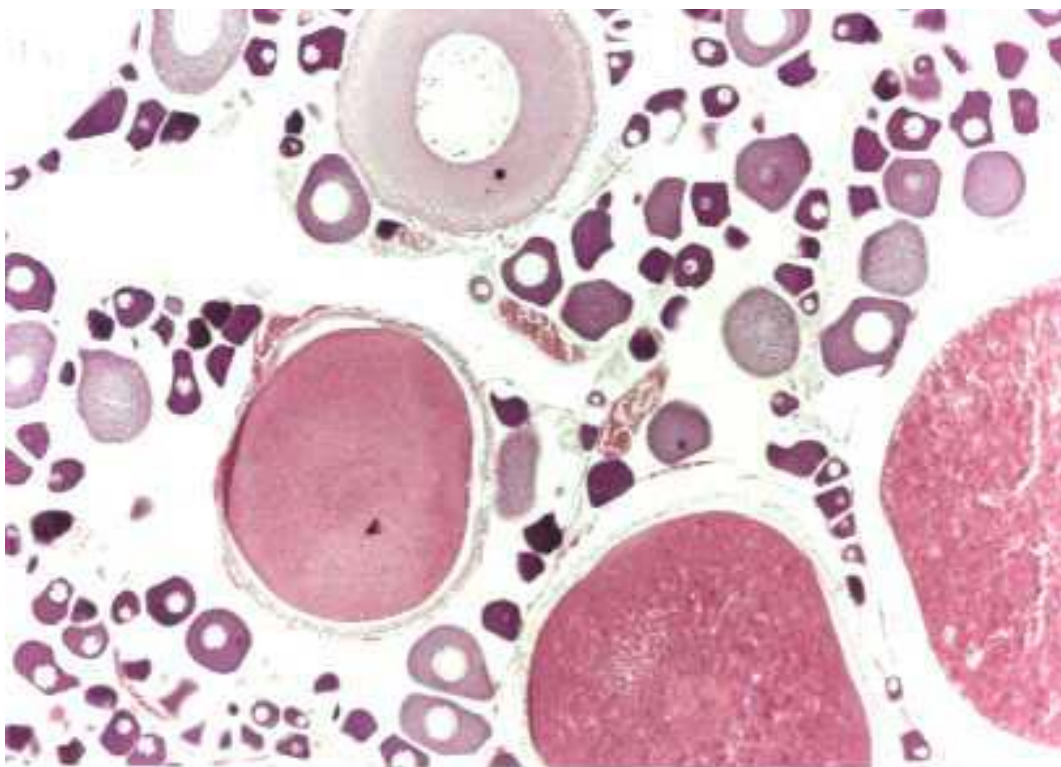


Figura 27-Corte transversal de ovário de *C. conirostris* no estágio 3 (maturação avançada/maduro) caracterizado pelo aparecimento de ovócitos vitelogênicos (O4) além de O1, O2 e O3 HE 100x.

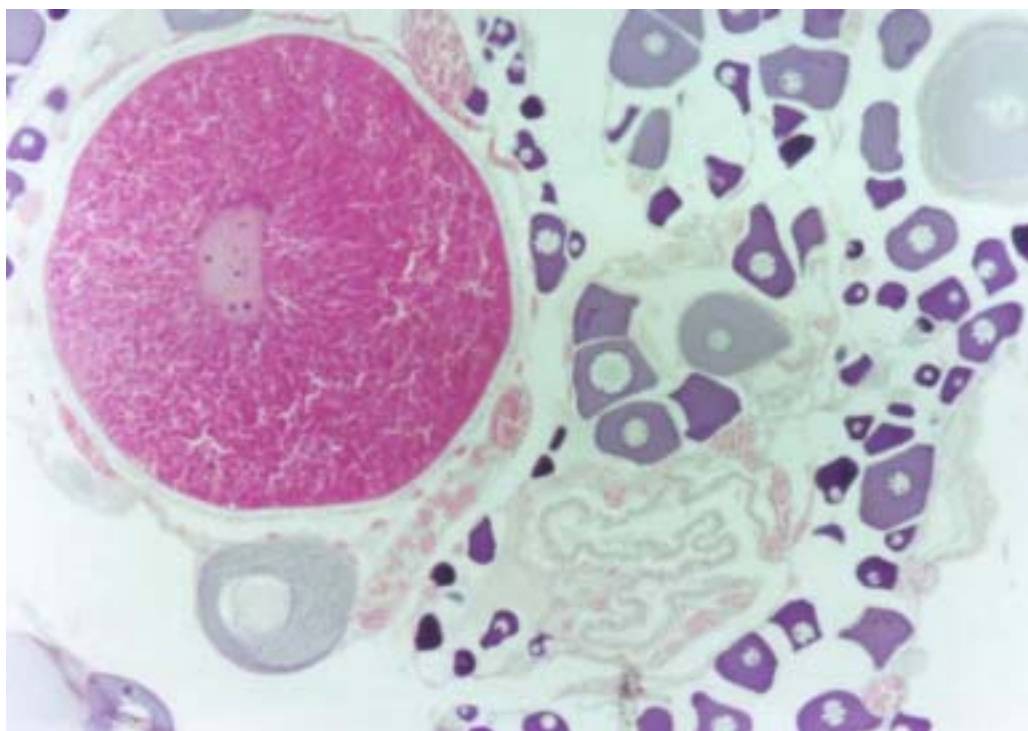


Figura 28- Corte transversal de ovário de *C. conirostris* no estágio 4 (desovado). Observe folículos pós-ovulatórios (asterisco) HE 100x.

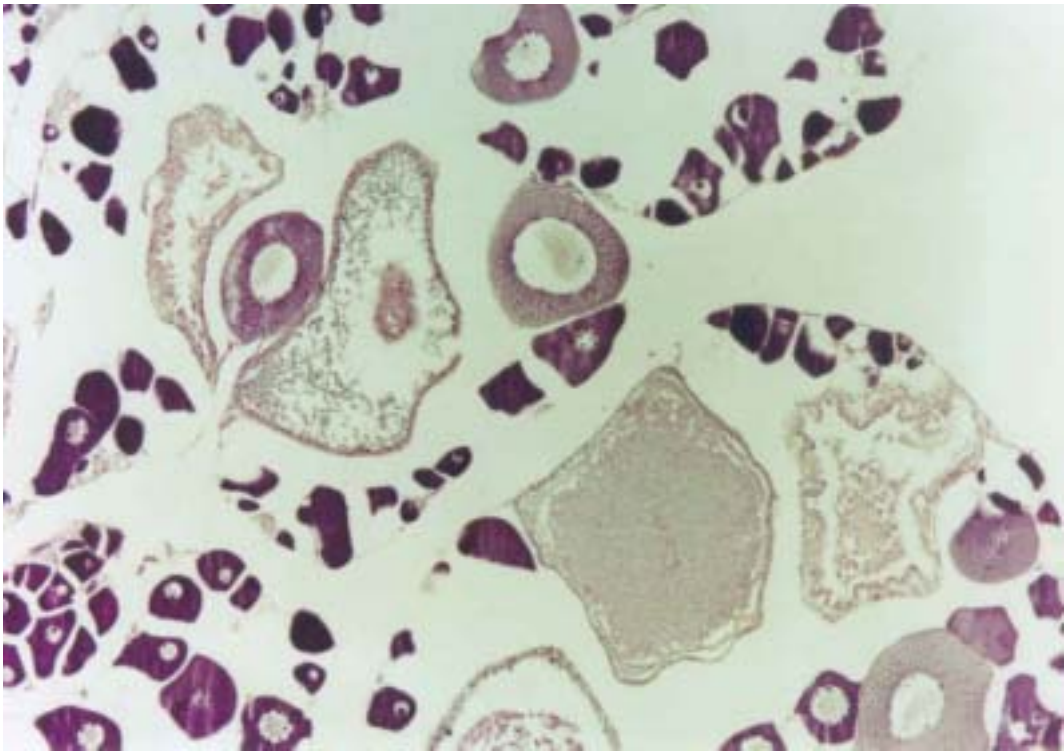


Figura 29-Corte transversal de ovário de *C. conirostris* no estágio 4 (desovado) com folículos pós-ovulatórios (asterisco) e folículos atrésicos (FA). HE 100x.

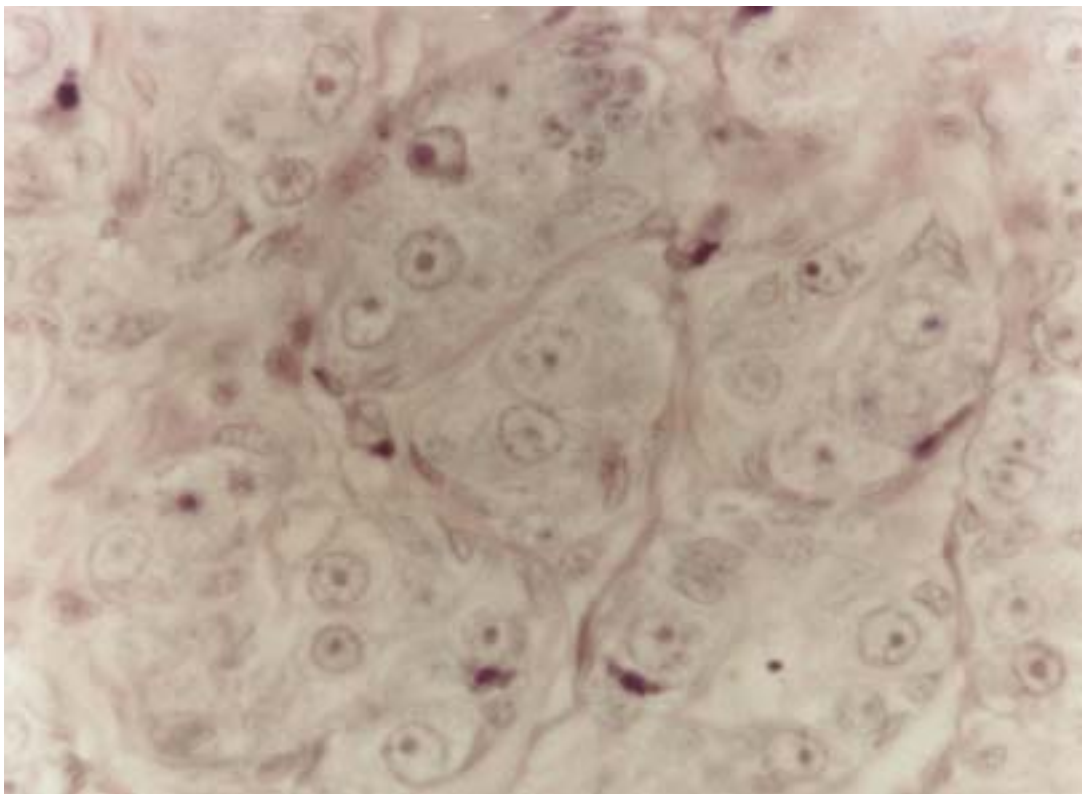


Figura 30-Corte transversal de testículo de *C. conirostris* no estágio 1 (repouso) com espermatogônias (G) HE 1100x.

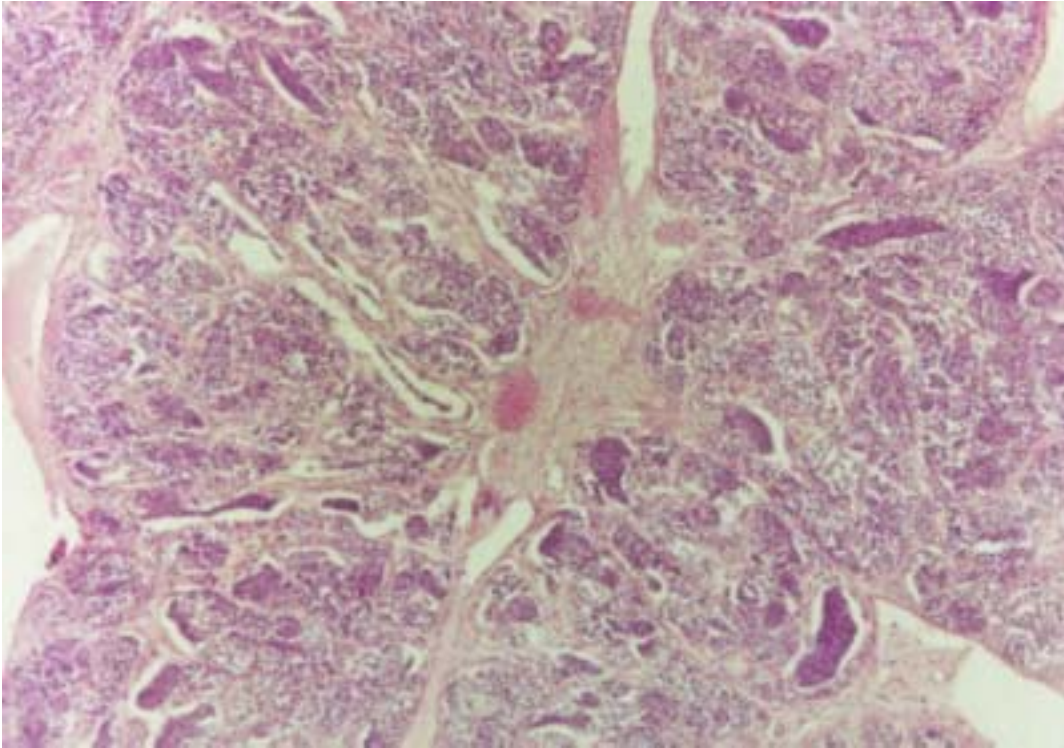


Figura 31-Corte transversal de testículo de *C. conirostris* no estágio 2 (maturação inicial) mostrando túbulos seminíferos com pequena quantidade de espermatozoides (Z) HE 100x.

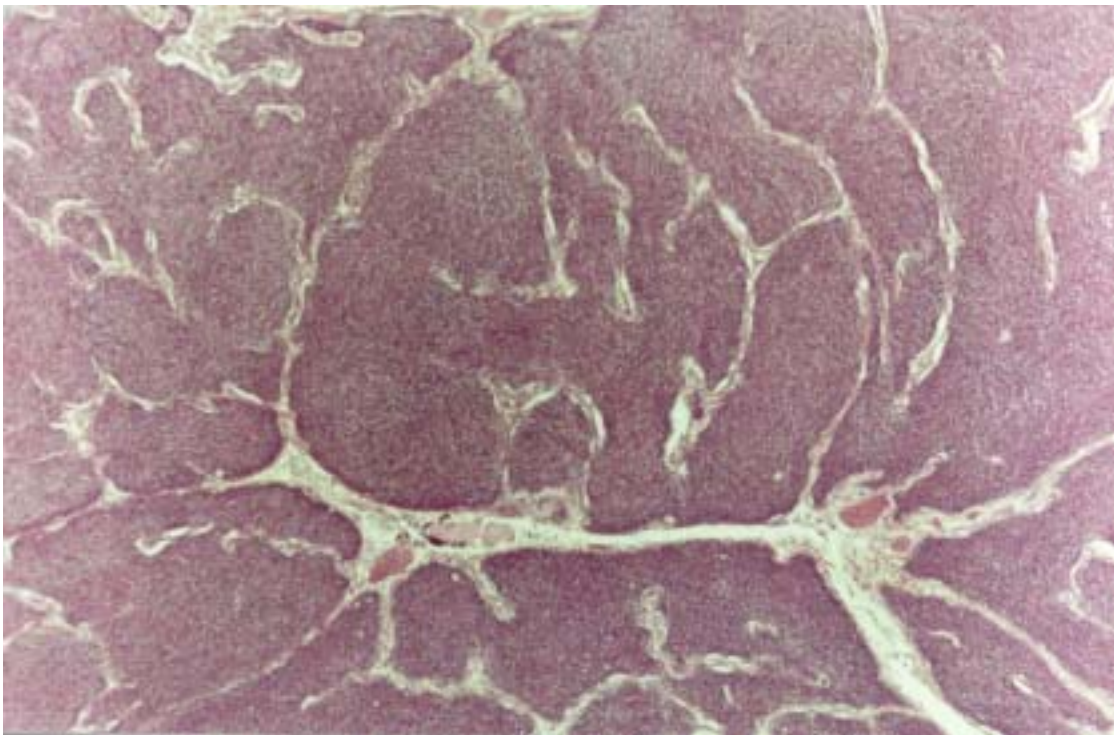


Figura 32-Corte transversal de testículo de *C. conirostris* no estágio 3 (maturação avançada/maduro) mostrando túbulos seminíferos repletos de espermatozoides (Z) HE 100x.

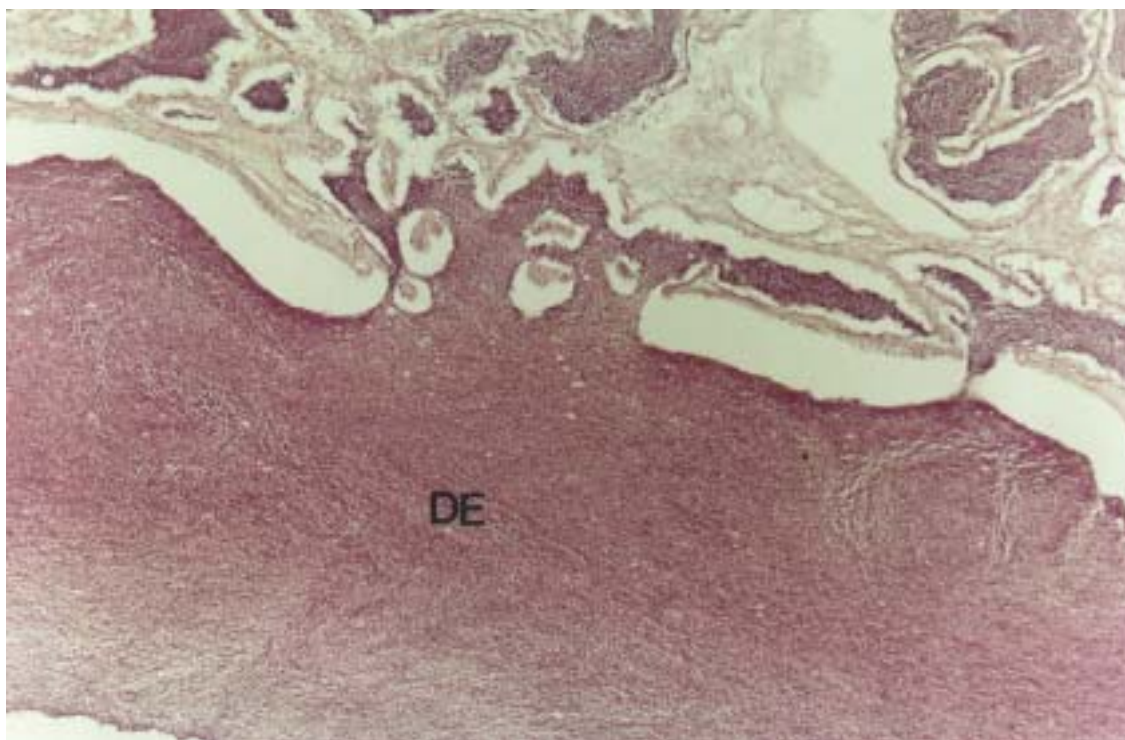


Figura 33- Corte transversal de testículo de *C. conirostris* no estágio 3 (maturação avançada/maduro) com ducto espermático (DE) repleto de espermatozoides HE 100x.

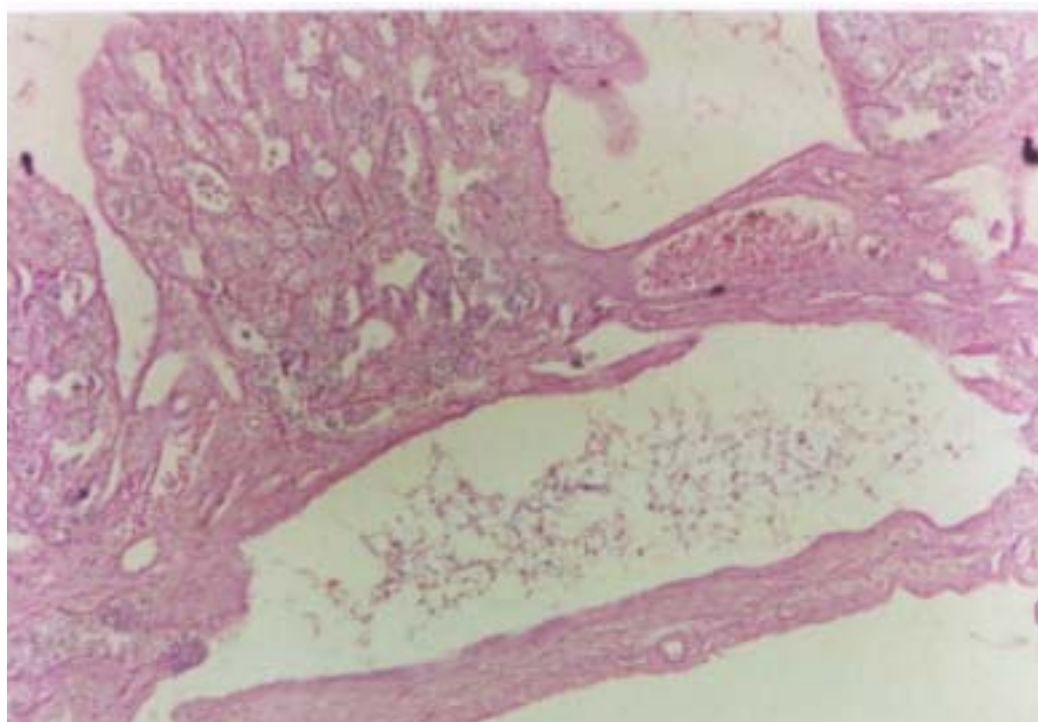


Figura 34-Corte transversal de testículo de *C. conirostris* no estágio 4 (esgotado) com túbulos seminíferos com lume amplo (setas) e ducto espermático (DE) com pequena quantidade de espermatozoides residuais HE 100x.

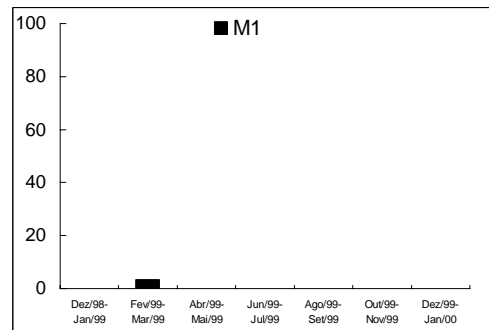
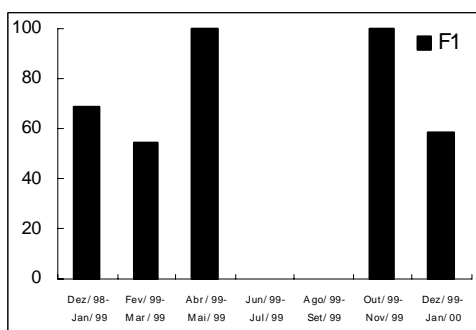
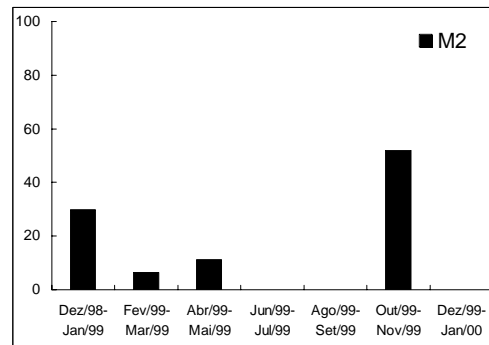
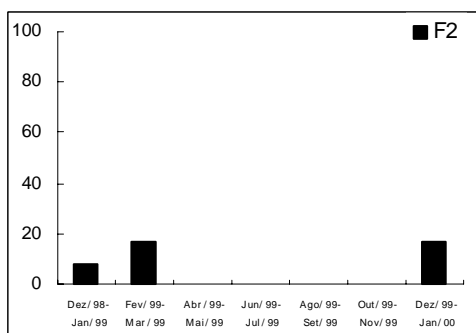
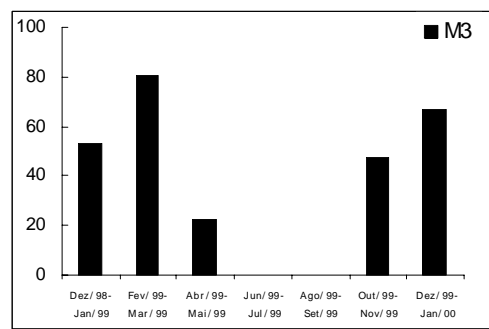
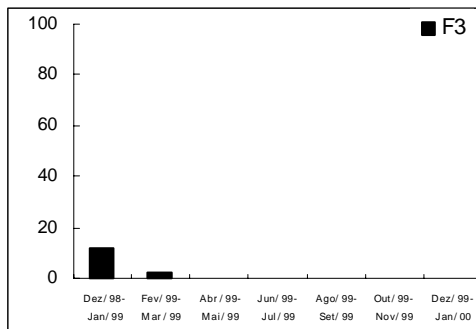
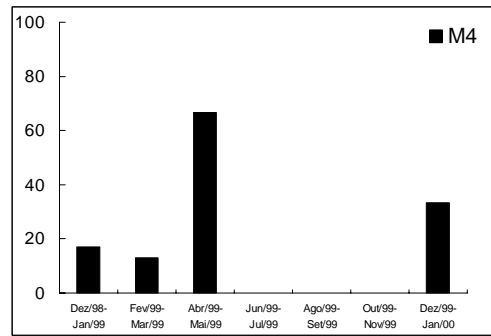
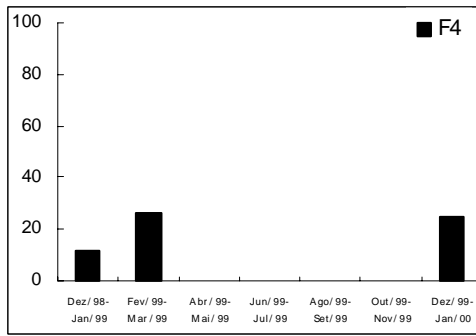


Figura 36- Valores médios e respectivos desvios-padrão dos índices gonadosomático (IGS), hepatossomático (IHS), de repleção estomacal (IRE), de gordura celômica (IGC) e fator de condição (K), por estágio do ciclo reprodutivo, de fêmeas e machos de *C. conirostris*, do rio São Francisco, região de Pirapora, MG, no período de dezembro/1998 a janeiro/2000.

4 DISCUSSÃO

4.1 Morfologia das gônadas

As características macroscópicas e microscópicas dos ovários de *C. conirostris* são semelhantes às daquelas de outros pimelodídeos brasileiros (GODINHO et al., 1997; SANTOS, 2001; BAZZOLI, 2002). Pelo fato de apresentarem continuidade com o oviduto, os ovários do pirá são do tipo cistovariano, de acordo com a classificação de HOAR (1969).

Testículos de *C. conirostris* apresentam projeções digitiformes ou franjas, relatados também em outros Siluriformes das famílias Ictaluridae (SNEED & CLEMENS, 1963), Clariidae (SIRCAR, 1970), Pimelodidae (LOIR et al., 1989; BAZZOLI et al., 1997; SANTOS et al., 2001), Doradidae (GIESE et al., 1999) e Auchenipteridae (MEISNER et al., 2000). Apesar do aspecto franjado, as características histológicas dos testículos de *C. conirostris* são similares às daquelas da maioria dos teleósteos, com espermatogônias distribuídas em toda a extensão dos túbulos seminíferos (GRIER, 1981). Alguns Siluriformes apresentam atividade secretora nos túbulos das franjas caudais dos testículos (SANTOS et al., 2001). No presente estudo, não foi observada atividade secretora em nenhuma região testicular.

4.2 Gametogênese

Os ovócitos de *C. conirostris* foram classificados em quatro estádios de desenvolvimento, baseando-se nas características do núcleo, citoplasma e parede folicular, de acordo com BAZZOLI & RIZZO (1990).

No presente estudo, observou-se nos O2, núcleo vitelínico, estrutura única e basófila que aparece na região justanuclear, fragmentando-se em seguida em grânulos grosseiros que se dispersam por todo ooplasma, conforme observações de BAZZOLI & GODINHO (1995). As funções do núcleo vitelínico não são claras, mas evidências ultra-estruturais indicam sua participação na formação das vesículas corticais (SELMAN & WALLACE, 1989).

Os O3 de *C. conirostris* caracterizam-se por apresentar vesículas corticais constituídos de várias camadas de vesículas grandes coincidindo com os relatos de

BAZZOLI & GODINHO (1994). Esses autores também constataram que os alvéolos corticais de *C. conirostris* contêm glicoproteínas neutras. O conteúdo dos alvéolos corticais de teleósteos é liberado no espaço peri-vitelínico, no momento da fertilização, constituindo bloqueio à polispermia (YAMAMOTO, 1961).

Durante o desenvolvimento ovocitário, glóbulos de vitelo mantêm-se íntegros ou eventualmente podem fundir-se, formando vitelo fluído que confere transparência característica em alguns ovos (SELMAN & WALLACE, 1989). No presente estudo, não se observou fusão de glóbulos de vitelo similar à maioria dos teleósteos (WEST, 1990).

Na fase pré-vitelogênica, a zona pelúcida de *C. conirostris* apresenta-se constituída de camada única, enquanto na fase vitelogênica, apesar de delgada, mostra-se com duas camadas distintas, similar à maioria dos pimelodídeos brasileiros (BAZZOLI, 1992). A zona pelúcida de teleósteos é interrompida na região do pólo animal por uma abertura especializada, a micrópila, que permite a passagem do espermatozóide fertilizante (NAKASHIMA & IWAMATSU, 1994). No pirá, a micrópila apresenta vestíbulo amplo e curto canal micropilar, correspondendo ao tipo 1 da classificação de RICARDO *et al.* (1996).

A forma das células foliculares é variável, dependendo da espécie e da fase de desenvolvimento do ovócito (BAZZOLI, 1992). No presente estudo, as células foliculares apresentam-se em camada única de células pavimentosas nos O1 e O2, cúbicas nos O3 e prismáticas nos O4.

Os folículos pós-ovulatórios de *C. conirostris* apresentam-se constituídos de células foliculares hipertrofiadas e teca com vascularização abundante, similar àqueles de *Astyanax bimaculatus* observados por DRUMMOND *et al.* (2000) que constataram morte celular programada ou apoptose durante a involução de células foliculares pós-desova. Folículos atrésicos de teleósteos podem ocorrer em qualquer estágio do ciclo reprodutivo (GURAYA, 1994). No presente estudo, os folículos atrésicos foram mais freqüentes durante o período pós-desova, coincidindo com as observações de MIRANDA *et al.* (1999).

Variações morfológicas no núcleo e no citoplasma das células germinativas são observadas ao longo da espermatogênese que se inicia com a proliferação e diferenciação de espermatogônias nas outras células da linhagem (PUDNEY, 1993).

No presente estudo, espermatogônias apresentaram característicos grupamentos mitocondriais unidos por cimento ou "nuage", similar às observações de CLEROT (1979) que também identificou nesse cimento, RNA ribossômico de origem nuclear.

Os complexos sinaptonêmicos, formados pelo pareamento de cromosomas durante a primeira divisão meiótica, são característicos dos espermatócitos primários (GRIER, 1975), como também observado em *C. conirostris*. Na espermiogênese do pirá ocorre reorganização do núcleo, redução do citoplasma com formação da fossa nuclear e surgimento do flagelo, similar aos relatos de NAGAHAMA (1983). Na diferenciação das espermátides, ocorre gradual condensação nuclear e formação de pequenas vesículas de pinocitose as quais, segundo THIAW *et al.* (1988) incorporam substâncias exógenas que participam do mecanismo de redução citoplasmática através de fagocitose efetuada pelas células de Sertoli (GRIER, 1973; GUSMÃO *et al.*, 1999).

Os espermatozóides de *C. conirostris* apresentam cabeça alongada, poucas mitocôndrias, cauda longa e ausência de acrosoma, características típicas de espermatozóides primitivos dos peixes de fertilização externa (BILLARD, 1969). Além dessas características, observou-se cromatina em forma de U invertido ou ferradura e fossa nuclear profunda, semelhante às observações de JAMIESON (1991) em Tetraodontiformes e NATH & CHAND (1998) no Siluriformes *Heteropneustes fossilis*.

As características ultra-estruturais das células de Sertoli de *C. conirostris* sugeriram que, além das funções de sustentação e de síntese (PUDNEY, 1995), elas podem participar da barreira hemo-testicular, por apresentarem-se conectadas umas às outras por desmosomas e junções do tipo "tight" (SILVA & GODINHO, 1989; GRIER, 1973).

No presente estudo, as células de Leydig apresentam morfologia típica de células esteroideogênicas devido à presença abundante de retículo endoplasmático liso e de mitocôndrias com cristas tubulares (PAYNE *et al.*, 1996 e ANDRADE *et al.*, 2001).

A presença de células mióides nos testículos de *C. conirostris*, contendo no citoplasma corpos densos e microfilamentos, sugerem atividade contrátil dessa célula e coincide com os relatos de YARON (1995) e SANTOS *et al.*(2001).

4.3 Ducto espermático e papila urogenital

As células epiteliais do ducto espermático secretam substâncias que formam o fluido seminal (BILLARD & TAKASHIMA, 1983), além de reabsorverem espermatozóides residuais (RASSOTO & SHAPIRO, 1998). De fato, evidências histológicas e ultra-estruturais do presente estudo indicaram a participação do ducto espermático na liberação e reabsorção de espermatozóides.

Na papila urogenital de *C. conirostris*, observou-se no epitélio de revestimento células caliciformes e células musculares lisas, sugerindo atividade secretora e participação na liberação de gametas, como relatado por RASSOTO & SHAPIRO (1998) e RICHTARSKI & PATZNER (2000).

4.4 Estádios do ciclo reprodutivo e tipo de desova

No presente estudo, observou-se picos de atividade reprodutiva em curto período, de dezembro a março que, associados às características histológicas de ovários desovados, indicaram que a desova de *C. conirostris* é do tipo total. Resultados similares foram registrados em outras espécies migradoras e de interesse comercial da região de Pirapora, tais como: surubins, dourados, matrinxãs e curimatás (BAZZOLI, 2002).

4.5 Índices biológicos

O IGS tem sido considerado bom indicador da atividade reprodutiva de peixes (VAZZOLER, 1996). No presente estudo, as variações do IGS foram associadas às análises histológicas das gônadas, constituindo recurso auxiliar na determinação dos estádios do ciclo reprodutivo, similar aos procedimentos de BAZZOLI & GODINHO (1991), LAMAS & GODINHO (1996), GRIER & TAYLOR (1998). O aumento do IGS de fêmeas de *C. conirostris*, na maturação inicial e, sua redução, na maturação avançada/maduro, sugerem possível transferência de substâncias hepáticas

(vitelogenina) do fígado para os ovários, as quais contribuirão para a formação do vitelo exógeno (SELMAN & WALLACE, 1989). A redução do IRE e IGC de fêmeas e de machos, na época reprodutiva, indicou que *C. conirostris* alimenta-se menos e consome reservas graxas, durante a maturação, a desova e a espermição, concordando com observações de LE CREN (1951) e BOND (1979).

4.6 Estrutura populacional e proporção sexual

Segundo NIKOLSKY (1963), o número de fêmeas e de machos pode apresentar variação entre as espécies, mas na maioria das vezes a proporção sexual é próxima de 1:1, conforme observado no presente estudo.

Considerando-se a legislação da pesca, no presente estudo não foi possível capturar exemplares imaturos para determinar o tamanho de primeira maturação sexual pelo método L50, tamanho no qual 50% da população é imatura e 50% é adulta. Por isso, o tamanho do menor exemplar fêmea e macho capturado no estágio de maturação avançada/maduro pode ser um indicativo do tamanho de primeira maturação sexual de *C. conirostris*, conforme procedimentos de BAZZOLI, 2002.

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados observados no presente estudo, conclui-se que:

- Testículos de *C. conirostris* são franjados cujas franjas comunicam-se com o ducto espermático;
- Células epiteliais do ducto espermático de machos têm atividade secretora e podem reabsorver espermatozóides residuais;
- Na papila urogenital de machos, células caliciformes do epitélio de revestimento têm atividade secretora e células musculares lisas da mucosa participam da liberação de espermatozóides;
- O período reprodutivo do pirá é curto e a desova é do tipo total;
- No período reprodutivo, *C. conirostris* diminui a atividade alimentar e o consumo de reservas graxas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, R.F.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SATO, Y. Continuous gametogenesis in the neotropical freshwater teleost, *Bryconops affinis* (Pisces: Characidae). **Tissue & Cell**, v.33, n.5, p.524-532, 2001.
- BAZZOLI, N.; RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of oogenesis in ten brasilian teleost fish species. **Eur. Arch. Biol.**, v.101, p.399-410, 1990.
- BAZZOLI, N. **Ovogênese em peixes teleósteos neotropicais de água doce**. 1992. 182p. Tese (Doutorado em Morfologia) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- BAZZOLI, N. Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial do rio São Francisco na região de Pirapora. In: GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. (Eds.). **Águas, peixes e pesca no São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: Segrac, 2002. No prelo.
- BAZZOLI, N.; CANGUSSU, L.C.V.; RIZZO, E.; SANTOS, G.B. Reprodução e desova de mandis *Pimelodus maculatus* e *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) nos reservatórios de Furnas, Marimbondo e Itumbiara. **BIOS**, v.5, n.5, p.7-15, 1997.
- BAZZOLI, N.; GODINHO, H.P. Reproductive biology of the *Acestrorhynchus lacustris* (Reinhardt, 1874) (Pisces: Characidae) from Três Marias Reservoir. **Zool. Anz.**, v.226, n.5/6, p.285-297, 1991.
- BAZZOLI, N.; GODINHO, H.P. Cortical alveoli in oocytes of freshwater neotropical teleost fish. **Boll. Zool.**, v.61, p.301-308, 1994.
- BAZZOLI, N.; GODINHO, H.P. Comparative morphology of the yolk nucleus (Balbiani body) in freshwater neotropical teleost fish. **Rev. Brasil. Biol.**, v.55, n.2, p.207-214, 1995.
- BILLARD, R. La espermatogênese de *Poecilia reticulata*. I. Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogênese. **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.**, v.9, p.251-271, 1969.
- BILLARD, R.; TAKASHIMA, F. Resorption of spermatozoa in the sperm duct of rainbow trout during the post-spawning period. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.49, n.3, p.387-392, 1983.
- BOND, C.E. **Biology of fishes**. Philadelphia: Sauders College Publishing, 1979. 514p.
- CLEROT, J.C. Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens cyprinids II- Étude autoradiographique à haute resolution de l'incorporation de phenilalanine 3H et d'uridine 3H. **Exp. Cell Res.**, v.120, p.237-244, 1979.
- DRUMMOND, C.D.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SATO, Y. Post-ovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. **J. Exper. Zool.**, v.287, p.176-182, 2000.
- GIESE, E.G.; MATOS, E.; ISAAC, V.J.; SANCHES, O.C. Anatomia e histologia do testículo

de *Lithodoras dorsalis* (Doradidae, Siluriformes). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, 13, 1999, São Carlos, SP. **Resumos...** p.404.

GODINHO, A.L. **Bases para a conservação e restauração dos recursos pesqueiros do alto-médio São Francisco.** Belo Horizonte: UFMG/FUNED, 2000. 48p. Relatório.

GODINHO, H.P.; MIRANDA, M.O.T.; GODINHO, A.L.; SANTOS, J.E. Pesca e biologia do surubim *Pseudoplatystoma coruscans* no rio São Francisco. In: MIRANDA, M.O.T. (Org.) **Surubim.** Belo Horizonte: IBAMA, 1997. p.27-42 (Coleção Meio Ambiente, Série Estudos Pesca, 19).

GRIER, H.J. Ultrastructure of the testis in the teleost *Poecilia latipinna*. **J. Ultrastruct. Res.**, v.45, p.82-92, 1973.

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

GRIER, H.J. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **Amer. Zool.**, v.21, p.345-357, 1981.

GRIER, H.J.; TAYLOR, R.G. Testicular maturation and regression in the common snook. **J. Fish Biol.**, v.53, p.521-542, 1998.

GURAYA, S.S. Gonadal development and production of gametes in fish. **Proc. Indian Natn. Sci. Acad.**, v.60, p.15-32, 1994.

GUSMÃO, P.; FORESTI, F.; QUAGIO-GRASSIOTO, I. Ultrastructure of spermiogenesis in *Plagiscion squamosissimus* (Teleostei, Perciformes, Scianidae). **Tissue & Cell**, v.31, n.6, p.627-633, 1999.

HOAR, W.S. Reproduction. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J. (Ed.). **Fish Physiology.** London: Academic Press, 1969. v.3, p.1-72.

JAMIESON, B.G.M. **Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa.** Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 319 p.

LAMAS, I.R. **Análise de características reprodutivas de peixes brasileiros de água doce, com ênfase no local de desova.** 1993. 72p. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

LAMAS, I.R.; GODINHO, A.L. Reproduction in the piranha *Serrasalmus spiroleura*, a neotropical fish with an usual pattern of sexual maturity. **Environ. Biol. Fishes**, v.45, p.161-168, 1996.

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

LINS, L.V.; MACHADO, A.B.M.; COSTA, C.M.R.; HERRMANN, G. **Roteiro metodológico para elaboração de listas de espécies ameaçadas de extinção:** contendo a lista oficial da

fauna ameaçada de extinção de Minas Gerais. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 1997. 55p.

LOIR, M.; CAUTY, C.; PLANQUETTE, P.; BAIL, P.Y. Comparative study of the male reproductive tract in seven families of South-American catfishes. **Aquat. Living Resour.**, v.2, p.45-56, 1989.

MEISNER, A.D.; BURNS, J.R.; WEITZMAN, S.H.; MALABARBA, L.R. Morphology and histology of the male reproductive system in two species of internally inseminating South American catfishes, *Trachelypterus lucenai* and *T. galeatus* (Teleostei: Auchenipteridae). **J. Morphol.**, v.246, p.131-141, 2000.

MENEZES, R.S. **Pesquisas de pesca e piscicultura no rio São Francisco**: levantamento das realizações anteriores e perspectivas futuras. Fortaleza: DNOCS/CHESF/SUDEPE, 1973. Doc. Téc. nº 1. 36p.

MIRANDA, A.C.L.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SATO, Y. Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study. **Tissue & Cell**, v.31, n.5, p.480-488, 1999.

NAGAHAMA, Y. The functional morphology of teleosts gonads. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J. (ed.). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, 1983. v. 9, pt A, p. 233-275.

NAKASHIMA, S.; IWAMATSU, T. Ultrastructural changes in micropylar and granulosa cells during in vitro oocyte maturation in the medaka, *Oryzias latipes*. **J. Exp. Zool.**, v.270, n.6, p.547-556, 1994.

NATH, A.; CHAND, B. Ultrastructure of spermatozoa correlated with phylogenetic relationship between *Heteropneustes fossilis* and *Rana tigrina*. **Cytobios**, v.95, n.380, p.161-165, 1998.

NIKOLSKI, G.V. **The ecology of fishes**. London: Academic Press, 1963. 352p.

PAIVA, M.P.; BASTOS, S.A. Marcações de peixes nas regiões do alto e médio São Francisco (Brasil). **Ciência e Cultura**, v.34, n.10, p.1362-1365, 1982.

PAYNE, A.H.; HARDY, M.P.; RUSSELL, L.D. **The Leydig Cell**. Vienna, IL: Cache River Press, 1996. 802p.

PEARSE, A.G.E. **Histochemistry: theoretical and applied**. 4.ed. New York, 1985. v.2.

PUDNEY, J. Comparative cytology of the non-mammalian vertebrate Sertoli cell. In: RUSSELL, L.D.; GRISWOLD, M.D. (Ed.). **The Sertoli Cell**. Clearwater: Cache River Press, 1993. p.611-657.

PUDNEY, J. Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. **Microsc. Res. Tech.**, v.6, p.459-497, 1995.

RASSOTO, M.B.; SHAPIRO, D.Y. Morphology of gonoducts and male genital papilla, in the

bluehead wrasse: implications and correlates on the control of gamete release. **J. Fish Biol.**, v.52, p.716-725, 1998.

RICARDO, M.C.P.; AGUIAR, C.A.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Morfologia da micrópila e da célula micropilar em teleósteos neotropicais de água doce. **Arq. Bras. Vet. Zootec.**, v.48, (suppl.1), p.17-24, 1996.

RICHTARSKI, U.; PATZNER, R.A. Comparative morphology of male reproductive systems in Mediterranean blennies (Blenniidae). **J. Fish Biol.**, v.56, p.22-36, 2000.

SANTOS, J.E. **Gametogênese e biologia reprodutiva de *Iheringichthys labrosus* (Lütken, 1874) (Pisces: Pimelodidae) do reservatório de Furnas, rio Grande, MG: estudo anatômico, biométrico, histológico e ultra-estrutural.** 2001. 106p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Minas Gerais.

SANTOS, J.E.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SANTOS, G.B. Morphofunctional organization of the male reproductive system of the catfish *Iheringichthys labrosus* (Lütken, 1874) (Siluriformes: Pimelodidae). **Tissue & Cell**, v.33, n.5, p.533-540, 2001.

SATO, Y. **Reprodução de peixes da bacia do rio São Francisco: indução e caracterização de padrões.** 1999. 179p. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos.

SATO, Y.; CARDOSO, E.L.; AMORIM, J.C.C. **Peixes das lagoas marginais do rio São Francisco a montante da represa de Três Marias, Minas Gerais.** Brasília: CODEVASF, 1987. 42p.

SELMAN, K.; WALLACE, R.A. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. **Zool. Sci.**, v.6, p.211-231, 1989.

SILVA, M.; GODINHO, H.P. Barreira hemo-testicular em *Oreochromis niloticus* (Peixe, teleósteo). **Rev. Bras. Ciên. Morfol.**, v.6, n.1, p.9-13, 1989.

SIRCAR, A.K. Morphology of the urinogenital system of some siluroid fishes. **Proc. Zool. Soc.**, v.23, p.93-117, 1970.

SNEED, K.E.; CLEMENS, H.P. The morphology of the testes and accessory reproductive glands of the catfishes (Ictaluridae). **Copeia**, v.4, p.606, 1963.

THIAW, O.T.; MATTEI, X.; ROMAND, R. Process of cytoplasmic elimination during spermiogenesis in two cyprinodontidae (Teleostean Fishes). **J. Ultrast. Molec. Struct. Res.**, v.101, p.192-198, 1988.

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

WEST, G. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. **Aust. J. Mar. Freshwater Res.**, v.41, p.199-222, 1990.

YAMAMOTO, K. Physiology of fertilization in fish eggs. **Int. Rev. Cytol.**, v.12, p.361-405, 1961.

YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. **Aquac.**, v.129, p.49-73, 1995.