



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**MATURAÇÃO GONADAL E SELEÇÃO DE FÊMEAS DE
SURUVI (*Steindachneridion scriptum*) EM CONDIÇÕES DE
CATIVEIRO**

Dissertação apresentada para obtenção
do título de Mestre em Aquicultura, no
programa de Pós-Graduação em
Aquicultura do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal de
Santa Catarina.

Orientador: Evoy Zaniboni Filho

Mariana Roza de Abreu

Florianópolis
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Abreu, Mariana Roza de
Maturação gonadal e seleção de fêmeas de suruvi
Steindachneridion scriptum em condições de cativeiro /
Mariana Roza de Abreu ; orientador, Evoy Zaniboni Filho -
Florianópolis, SC, 2015.

66 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. *Steindachneridion scriptum*. 3.
Reprodução de peixes. 4. Desenvolvimento ovocitário. 5.
Piscicultura de água doce. I. Zaniboni Filho, Evoy. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Maturação gonadal e seleção de fêmeas de suruvi
(*Steindachneridion scriptum*) em condições de cativeiro**

Por

MARIANA ROZA DE ABREU

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

Dr. Evoy Zaniboni Filho – *Orientador*

Dr. Fábio Bittencourt

Dr. Giuliano Palemão Carlos Maia Huergo

Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Evoy Zaniboni Filho pela confiança, ensinamentos e orientação.

Ao CNPq pelo financiamento da minha bolsa de estudos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da UFSC por terem me inspirado e me ensinado durante esses dois anos.

Ao Maurício Machado e Giuliano Huergo pela amizade e auxílio indispensável em campo.

À Samara Hermes Silva por ter me ajudado e ensinado muito durante a minha formação.

À Patrícia Garcia, Prof. Dr. Maurício Laterça e ao grupo de alunos e técnicos do Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS-UFSC) pelo espaço e auxílio na confecção das lâminas histológicas.

Aos funcionários da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) de Camboriú e Caçador por todo apoio técnico e suporte nas viagens de campo e manutenção dos peixes utilizados nessa pesquisa.

Ao Amarildo e família por sempre nos receberem muito bem em sua casa.

Aos grandes e inesquecíveis amigos que fiz durante esses cinco anos de LAPAD.

Muito Obrigada!

RESUMO

O objetivo deste estudo foi estabelecer protocolo para seleção de fêmeas de suruvi *Steindachneridion scriptum* aptas ao tratamento hormonal para indução à desova. No capítulo 1 foi determinado o padrão de distribuição de frequência dos diâmetros ovocitários que melhor representaram as fêmeas maduras através de biópsia ovariana. As fêmeas que apresentavam ovócitos nas amostras obtidas por biópsia ovariana ($n=33$) foram selecionadas e submetidas ao tratamento hormonal com extrato hipofisário de carpa para induzir a maturação final e desova dos ovócitos. De acordo com a resposta à indução hormonal e as taxas de fertilização e eclosão as fêmeas foram divididas em três distintos grupos definidos. Grupo A ($n=12$): Fêmeas que desovaram e produziram ovócitos viáveis, havendo fertilização dos ovos e eclosão de larvas; Grupo B ($n=6$): Fêmeas que responderam ao tratamento hormonal, desovaram, mas produziram ovócitos que praticamente não fertilizaram ou não eclodiram; Grupo C ($n=15$): Fêmeas que não responderam ao tratamento hormonal e não liberaram ovócitos. As fêmeas do Grupo A apresentaram padrão da distribuição de frequência dos diâmetros dos ovócitos exclusivamente unimodal, com valores modais entre 1624,20 e 1777,70 μm . No capítulo 2 as fases de desenvolvimento ovocitário de suruvi foram descritas. Ovócitos de 21 fêmeas maduras ou em maturação e gônadas de 12 fêmeas imaturas, mantidas em sistemas de cultivo, foram fixados em solução de Karnovsky por 4 e 12h, respectivamente, e em seguida processados com técnicas histológicas de rotina. Foi possível caracterizar cinco fases que compõem o ciclo completo do desenvolvimento ovocitário de suruvi.

Palavras-chaves: aquicultura, *Steindachneridion scriptum*, reprodução de peixes, desenvolvimento ovocitário, piscicultura de água doce.

ABSTRACT

The aim of this study was to establish protocol for selection of female suruvi *Steindachneridion scriptum* able to hormonal treatment to induce spawning. Chapter 1 determined percent frequency distribution of oocyte diameters that best represented mature females, through ovarian biopsy. Females which had oocytes in samples obtained by intra-ovarian biopsy ($n = 33$) were selected and subjected to hormonal treatment with carp pituitary extract to induce the final maturation and spawning. According to the response to hormonal induction and success in spawning, females were divided into three distinct groups. Group A ($n = 12$) Females that had spawned and produced viable oocytes, with fertilization of eggs and hatching larvae; Group B ($n = 6$): Females which released eggs, but no fertilization or hatching was obtained; Group C ($n = 15$): Females which did not spawned. Females which responded positively to the hormonal induction and produced viable oocytes had a unimodal percent frequency distribution of oocyte diameters, with modal values between 1624.20 and 1777.70 μm . Stages of oocyte development of suruvi were described on chapter 2. Oocytes of 21 mature females or maturing and 12 immature females, kept in captivity, were fixed in Karnovsky solution for 4 and 12h, respectively, and then processed with routine histological techniques. It was possible to characterize five of oocyte development.

Key words: Aquaculture, *Steindachneridion scriptum*, reproduction of fish, oocyte development, freshwater farming.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema representativo do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (HPG). (Adaptado de: La reproducción de los peces, Carrilo, 2009). 19
- Figura 2.** Modelo de ovogênese em peixe. (Adaptado de READING e SULLIVAN, 2011). 20
- Figura 3.** Vitelogênese em peixes teleósteos. (Adaptado de: Benjamin J. Reading, Ph.D - <http://www4.ncsu.edu/~bjreadin/>) 21
- Figura 4.** *Steindachneridion scriptum*. Fonte: Acervo LAPAD 24
- Figura 5.** Distribuição de frequência porcentual do diâmetro dos ovócitos de suruvi, *Steindachneridion scriptum* do Grupo A (fêmeas que responderam ao tratamento hormonal e produziram ovócitos viáveis) $n = 12$ 32
- Figura 6.** Distribuição de frequência porcentual do diâmetro dos ovócitos de suruvi, *Steindachneridion scriptum* do Grupo B (fêmeas que produziram ovócitos com viabilidade baixa ou nula) $n = 6$ 33
- Figura 7.** Distribuição de frequência porcentual do diâmetro dos ovócitos de suruvi, *Steindachneridion scriptum* do Grupo C (fêmeas que não desovaram) $n = 15$ 34
- Figura 8.** (A) Ovócitos com sinais de atresia folicular (atr) obtidos da fêmea que apresentou ovócitos com maior diâmetro modal (1931,21 μm). (B) Ovócitos em vitelogênese lipídica (VL) e do estoque de reserva (ER) de fêmeas que apresentaram ovócitos com diâmetro modal $\leq 1470,70 \mu$ 35
- Figura 9.** Análise histológica de ovócitos de fêmeas do Grupo C (fêmeas que não desovaram) com distribuição unimodal e modas entre 1624,2 e 1777,7 μm . Presença de folículos atrésicos (atr). 36
- Figura 10.** Ovogônias iniciais (CG) e ovócitos do estoque de reserva (II). (CG) Ninhos de células germinativas; (II) Ovócitos da fase II; (CC) Células conjuntivas; (C) Capilares. 48

Figura 11. Ovócito em processo de vitelogênese lipídica. (VL) vacúolos lipídicos; (N) núcleo; (n) nucléolos; (II) ovócitos da fase II...49

Figura 12. Ovócito em processo de vitelogênese lipídica e protéica. (N) núcleo; (VL) vacúolos lipídicos; (MV) membrana vitelina; (PV) plaquetas vitelinas; (RB) região basófila perinuclear; (CF) células foliculares; (II) ovócitos da fase II.....50

Figura 13. Ovócitos com vitelogênese completa. (MV) membrana vitelina; (GV) grânulos de vitelo; (F) células foliculares; (N) núcleo; (RB) citoplasma basófilo.51

Figura 14. Representação gráfica dos valores mínimos, máximos e médios do diâmetro dos ovócitos de *S. scriptum* em cada fase de desenvolvimento.52

Figura 15. Folículo atrésico. (GV) grânulos de vitelo perdendo sua individualidade; (F) células foliculares; Seta indicando a ruptura da membrana vitelina.....53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis reprodutivas das fêmeas de <i>S. scriptum</i> dos diferentes grupos. As variáveis estão apresentadas como média (desvio-padrão).....	37
---	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
OBJETIVOS	26
OBJETIVO GERAL	26
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
JUSTIFICATIVA	26
CAPÍTULO 1 - DIÂMETRO OVOCITÁRIO PARA SELEÇÃO DE FÊMEAS MADURAS DE SURUVI <i>Steindachneridion scriptum</i> EM CONDIÇÕES DE CATIVEIRO	27
RESUMO	27
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	29
RESULTADOS	31
DISCUSSÃO	37
CONCLUSÃO	39
Referências Bibliográficas	39
CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO OVOCITÁRIO DE SURUVI <i>Steindachneridion scriptum</i> EM CONDIÇÕES DE CATIVEIRO	43
RESUMO	43
ABSTRACT	43
INTRODUÇÃO	44
MATERIAL E MÉTODOS	45
RESULTADOS	46
DISCUSSÃO	53
CONCLUSÃO	55
Referências Bibliográficas	55

CONCLUSÕES GERAIS.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	60
Anexos	65

INTRODUÇÃO

A produção mundial de peixes, incluindo pesca e aquicultura, tem crescido de forma constante nas últimas cinco décadas, com a oferta de peixes para a alimentação humana aumentando a uma taxa média anual de 3,2%, ultrapassando o crescimento da população mundial em 1,6% (FAO, 2014). Os organismos aquáticos contribuíram com 17% da proteína animal utilizada para alimentação em 2010, com grande destaque para os países em desenvolvimento, onde essa contribuição foi acima de 75% (WAITE et al., 2014). O consumo global *per capita*, excluindo a China, aumentou de uma média de 11,4 kg na década de 60 para 15,4 em 2010 (FAO, 2014). A China tem sido responsável pela maior parte do aumento na disponibilidade de peixes, devido à grande expansão em sua produção, particularmente da aquicultura, e ao intenso consumo *per capita* dessa fonte de alimento, o qual apresentou uma taxa de aumento anual de 6% no período de 1990-2010 (FAO 2014).

Em 2012 a produção aquícola mundial atingiu 90,4 milhões de toneladas, sendo que 66,6 milhões dessa produção refere-se à piscicultura, com uma taxa de crescimento anual de 6,2% no período de 2000-2012 (FAO, 2014). O Brasil melhorou sua posição no ranking mundial de forma significativa nos últimos anos, alcançando a décima segunda posição em produção aquícola, no entanto a sua representatividade em escala mundial é de apenas 1,1%. Para que o cultivo de peixes permaneça em ascensão no Brasil, assim como em outros países, se faz necessário a disponibilidade de alevinos em quantidade e qualidade suficientes para serem produzidos e comercializados, comprovando a importância da reprodução em cativeiro das espécies (STREIT JR et al., 2002; ANDRADE e YASUI, 2003).

Geralmente a Aquicultura é realizada com espécies, principalmente exóticas, que apresentam um pacote tecnológico bem desenvolvido, incluindo os conhecimentos sobre a reprodução em cativeiro. Um dos desafios da criação de peixes está em inserir animais nativos, que apresentam interesse comercial, na cadeia produtiva. No entanto, em grande parte, a reprodução em cativeiro dessas espécies segue sendo realizada sem muito controle e de maneira aleatória fazendo com que muitos erros sejam cometidos, como por exemplo, as condições ambientais (fotoperíodo, temperatura) impostas durante o confinamento que diferem daquelas em que o indivíduo encontra no ambiente natural; o manejo não adequado provocando estresse, e

enfermidades; a alimentação (falta de alimento específico) (CUETO, 2009). Para contornar tal situação, é necessário o desenvolvimento de técnicas reprodutivas através do conhecimento das características da espécie a ser propagada (época e local de desova, características físico-químicas do ambiente, fisiologia e biologia reprodutiva), para que se possa manipular adequadamente a reprodução desses animais (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; ANDRADE e YASUI, 2003), uma vez que todos estes equívocos cometidos nas pisciculturas comerciais afetam a evolução normal do processo reprodutivo, pois interferem diretamente no sistema endócrino em diferentes níveis do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (CUETO, 2009).

Mudanças nas variáveis ambientais são traduzidas em efeitos sobre os processos reprodutivos através do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (PANKHURST e MUNDAY, 2011). Os sinais ambientais (e.g. fotoperíodo, temperatura e períodos de chuva) em conjunto com características sociais da espécie (e.g. presença de outros indivíduos, densidade da população, proporção de sexo, etc) afetam os órgãos sensoriais que enviam seus diferentes sinais para várias partes do cérebro atingindo o hipotálamo que inicia a produção do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) (HARVEY e CAROLSFELD, 1993; YARON e SIVAN, 2006; CUETO, 2009). Em resposta ao GnRH a glândula pituitária (hipófise) secreta os hormônios gonadotrópicos (GtH): hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), os quais encontram seus respectivos receptores nas gônadas, onde ocorrerá a secreção dos hormônios sexuais (Figura 1). Nas fêmeas, estes são estrogênios (controlam a vitelogênese) e progesterona (promove a maturação folicular e a ovulação) e nos machos, estes são andrógenos (regulam a espermatogênese e espermiogênese) e progesterona (controla a capacitação dos espermatozoides e a espermiacção) (YARON e SIVAN, 2006).

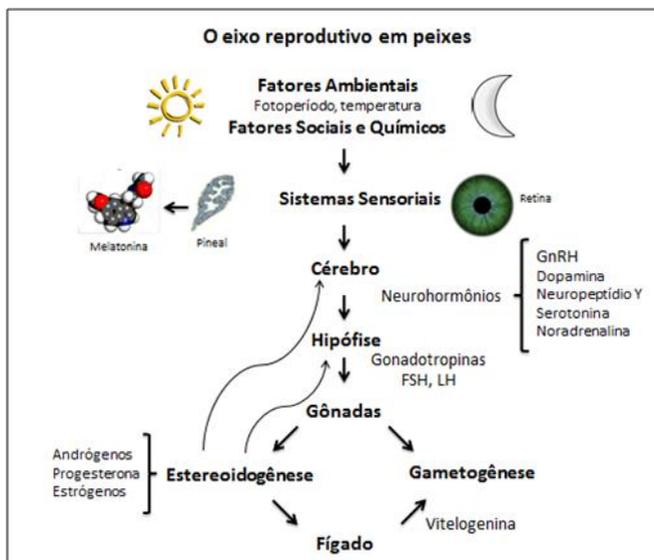


Figura 1. Esquema representativo do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (HPG). (Adaptado de: La reproducción de los peces, Carrilo, 2009).

O ciclo reprodutivo é um conjunto de processos sucessivos que acontece a partir de células germinativas imaturas para a produção de gametas maduros, apresentando como objetivo final a obtenção de óvulos fertilizados (MAÑANÓS et al., 2008). A liberação dos gametas maduros para o ambiente externo é um evento altamente sincronizado entre os processos fisiológicos de maturação gonadal com as condições ambientais, a fim de garantir o sucesso na fertilização dos ovócitos e o desenvolvimento de embriões (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004; MAÑANÓS et al., 2008).

As células germinativas imaturas evoluem para gametas maduros através do crescimento do folículo ovariano, que pode ser dividido entre dois estágios: pré-vitelogênico (crescimento primário) e vitelogênico (crescimento secundário), nos quais a maioria dos nutrientes lipídicos e proteicos necessários para o desenvolvimento embrionário e larval é estocada no ovócito (READING e SULLIVAN, 2011). A ovogênese é um processo que compreende a diferenciação, o crescimento e o desenvolvimento de células germinativas femininas e das membranas envoltórias (Figura 2). A dinâmica desse processo é que determinará a escala de maturidade das espécies e por sua vez, as suas táticas utilizadas para obterem sucesso na reprodução (FÁVARO et al.,

2005). Os estudos utilizando histologia permitem o conhecimento e a observação mais detalhada desse processo, sendo considerada a mais comum e geralmente a mais confiável técnica para avaliar as estratégias e táticas reprodutivas das espécies de peixes (KJESBU, 2010), permitindo a identificação dos mecanismos reprodutivos em peixes, o que é fundamental para a compreensão do ciclo de vida, do estabelecimento de diretrizes aos trabalhos de indução à desova na aquicultura e de normas de controle à exploração pesqueira (ZANIBONI-FILHO e RESENDE, 1988).

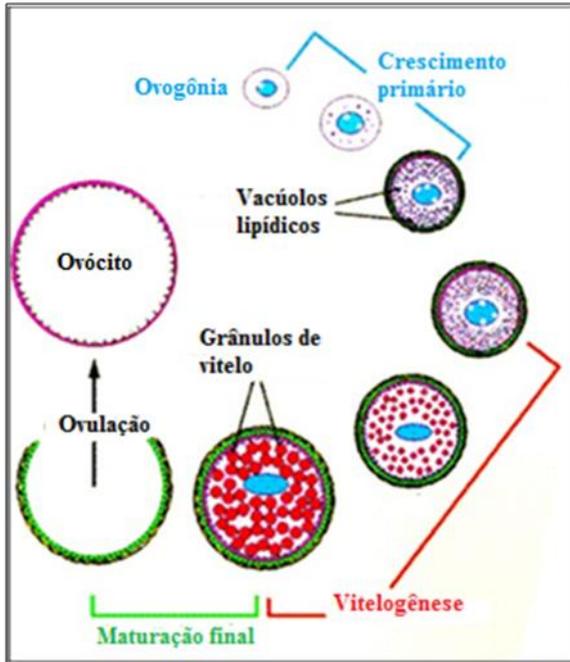


Figura 2. Modelo de ovogênese em peixe. (Adaptado de READING e SULLIVAN, 2011).

Durante o processo de vitelogênese o hormônio folículo estimulante (FSH) induz as células theca do folículo ovariano a produzirem testosterona, o qual é convertido em 17- β estradiol (E2) nas células granulosas, o qual estimula o fígado a sintetizar vitelogeninas que através da corrente sanguínea passam a atuar nos ovócitos (gônada) (Figura 3) (HARVEY e CAROLSFELD, 1993; TYLER e SUMPTER, 1996; READING e SULLIVAN, 2011). Em algumas espécies a vitelogênese pode ser acelerada por indução ambiental (temperatura e

fotoperíodo) ou por indução hormonal (aplicação de repetidas pequenas doses de hormônios gonadotrópicos ou implantes de liberação contínua de gonadotropinas e testosterona) (HARVEY e CAROLSFELD, 1993).

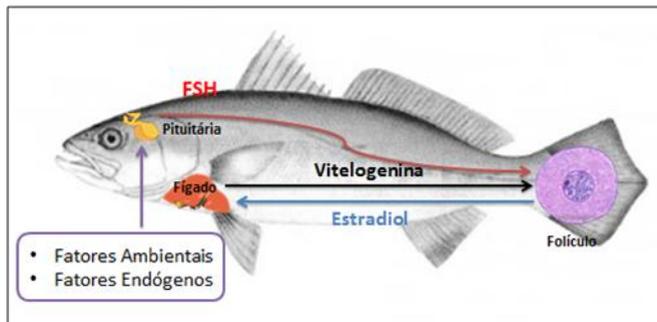


Figura 3. Vitelogenese em peixes teleosteos. (Adaptado de: Benjamin J. Reading, Ph.D - <http://www4.ncsu.edu/~bjreadin/>)

A maioria das espécies de peixes nativos do Brasil, com potencial para criação em cativeiro, é reofílica, que realiza migração em direção à nascente do rio na época da reprodução (PAULINO et al., 2011). Esse comportamento migratório é privado nos viveiros de piscicultura, impedindo que esses peixes atinjam o preparo fisiológico para a reprodução (PEREIRA et al., 2009), pois esses animais deixam de receber certos estímulos externos, fazendo com que não haja a resposta endócrina apropriada para a indução da maturação gonadal final, e, dessa forma, os ovários se desenvolvem apenas parcialmente (estágio de vitelogenese completa) e entram no “período de dormência” (ANDRADE e YASUI, 2003).

O “período de dormência” é caracterizado pela diminuição da atividade ovariana e sintonia com a adequação das condições ambientais para que a liberação dos ovócitos ocorra no período em que as características do meio ambiente estejam mais adequadas para o desenvolvimento e sobrevivência da prole (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Essa fase pode durar vários meses, no entanto, se as alterações no ambiente não forem suficientes para provocar o desenvolvimento dos ovócitos, o período de dormência prosseguirá até que ocorra a absorção dos mesmos, geralmente ocasionada por falta de condições ideais para a maturação final e desova ou por estresse devido a fatores ambientais críticos (e.g. oxigênio, temperatura, etc.) e por manejo inadequado durante a maturação final (HARVEY e CAROLSFELD, 1993; MURGAS et al., 2009).

Para obter sucesso na reprodução em cativeiro, é necessário realizar a seleção de peixes maduros que apresentem maior probabilidade de responder positivamente ao processo de indução da maturação final e desova (CAROLSFELD, 1989; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). O processo de seleção consiste na escolha de exemplares que completaram a vitelogênese e que estão com as gônadas no “período de dormência” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Os reprodutores de algumas espécies apresentam sinais externos expressivos que demonstram o estágio de maturação gonadal, como abdômen dilatado e macio, e a papila genital intumescida e avermelhada nas fêmeas; e liberação de esperma através de leve pressão abdominal ou emissão de sons e espículas nas nadadeiras nos machos (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983). Em contrapartida, fêmeas de algumas espécies não apresentam características tão evidentes que facilitem a sua seleção, o que estimula a busca por métodos mais objetivos e eficientes para selecionar aquelas aptas à reprodução.

Alguns procedimentos têm sido utilizados para aprimorar a seleção de fêmeas, como a realização de biópsias intraovariana para a análise da distribuição da frequência percentual dos diâmetros ovocitários (FENERICH-VERANI et al., 1984; ROMAGOSA et al., 1988) e da posição da vesícula germinativa (BRZUSKA, 1979; NARAHARA, et al., 2002). A utilização da ultrassonografia para avaliar o desenvolvimento gonadal de peixes tem sido relatada (MATTSON, 1991; BLYTHE et al., 1994; MARTIN-ROBICHAUD e ROMMENS, 2001), porém as espécies utilizadas nesses estudos são geralmente de clima temperado em contraste com a escassez de dados a respeito de peixes tropicais, onde apenas um trabalho foi reportado, utilizando fêmeas de *Pseudoplatystoma curuscans* (CREPALDI, et al., 2006b).

Após a seleção dos reprodutores é necessário realizar a indução artificial da ovulação (amadurecimento final dos ovócitos) e da desova. Essa indução pode ser realizada de duas maneiras: simulação de fatores ambientais propícios para a espécie, o que estimula a produção dos hormônios, pelo próprio peixe, que governam e dirigem o processo final de amadurecimentos das gônadas; e/ou administração de hormônios, com efeito similar ao anterior (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983).

Para as espécies reoflicas brasileiras o método mais utilizado é a indução hormonal, geralmente utilizando extrato hipofisário de carpa comum (*Cyprinus carpio*), chamado de hipofisação.

O método de hipofisação difundiu-se no mundo inteiro com a intensificação da piscicultura, o que propiciou o aperfeiçoamento da técnica, com variações da origem, preparação e purificação do extrato de

hipófise (STREIT JR et al., 2002). No Brasil, as técnicas de desova artificial de peixes com o uso de hipofisacção vinham se desenvolvendo desde a década de 1930 (ANDRADE e YASUI, 2003) com a equipe de Rodolpho Von Ihering. Porém, somente foram obtidos resultados expressivos para os peixes migradores brasileiros na década de 1970, com a equipe do Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

A “hipófise” é uma glândula que comanda todo o processo de reprodução, esta vem sendo industrializada e comercializada por muitos países, principalmente os Estados Unidos da América, Canadá, Hungria, França, Índia, China e Japão. O produto é dissecado de peixes doadores como a carpa, o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), e a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e outros, e exportado liofilizado em forma de pó, extrato glicerinado ou em unidades integrais dessecadas (ITANI, et al., 2010). Para o bom êxito da desova, é necessário que essas glândulas contenham quantidades adequadas de hormônios gonadotrópicos armazenados. A quantidade de gonadotropina está em seu nível mais alto na pituitária de peixes sexualmente maduros quando as suas gônadas alcançam ou quase alcançaram a fase de repouso e durante todo esse período (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983).

O local de ação do extrato de hipófise é diretamente sobre as gônadas (ovários e testículos). Nesse extrato estão contidos todos os hormônios produzidos pela hipófise, sobretudo as gonadotrofinas FSH e LH, que estimulam os ovários a secretar os hormônios esteróides sexuais que desencadeiam os eventos da maturação final dos ovócitos, culminando com a desova (VIVEIROS et al., 2011).

O método de hipofisacção consiste na administração de extrato hipofisário de peixe, mais comumente utilizado o de carpa comum, injetado na cavidade celomática ou via intramuscular nos reprodutores, em duas aplicações, sendo que o tempo entre elas e a dosagem hormonal distribuída entre as doses varia de acordo com a exigência de cada espécie (CREPALDI et al., 2006a), com o grau de maturação dos reprodutores e com o método de indução escolhido (ZANIBONI-FILHO e WEINGARTNER, 2007).

Para o suruvi (Figura 4), *Steindachneridion scriptum* (Ribeiro, 1918), uma espécie reofílica encontrada nas bacias hidrográficas do rio Uruguai e alto rio Paraná (GARAVELLO, 2005), a indução hormonal tem apresentado bons resultados com a utilização de extrato hipofisário de carpa (ZANIBONI-FILHO et al., 2010).

O procedimento de indução hormonal, normalmente utilizado nos trabalhos com o suruvi, demonstra a aplicação de uma dosagem

prévia de extrato hipofisário de carpa (EPC), equivalente a 0,25 mg de EPC kg⁻¹ de peixe entre 12 e 24 horas antes do tratamento convencional, quando as fêmeas recebem 0,5 e 5,0 mg de EPC kg⁻¹ de peixe e os machos 0,4 e 4,0 mg de EPC kg⁻¹ de peixe, sempre aplicadas com intervalo aproximado de 12 horas. Esse protocolo é o recomendado por Zaniboni-Filho e Barbosa (1996).



Figura 4. *Steindachneridion scriptum*. Fonte: Acervo LAPAD

Essa espécie habita locais profundos que sucedem corredeiras em rios de médio a grande porte (AGOSTINHO et al., 2008). Apresenta hábito alimentar piscívoro se alimentando de presas inteiras (MEURER e ZANIBONI-FILHO, 2000) e apresenta maior atividade durante a noite (ZANIBONI-FILHO e SHULZ, 2003). A partir de capturas científicas foram registrados exemplares com tamanho máximo de 90 cm de comprimento total e 7,0 kg, sendo considerado de grande porte (ZANIBONI-FILHO et al., 2004).

O *S. scriptum* é uma espécie iterópara (reproduz-se mais do que uma vez na vida); ovípara (fertilização e desenvolvimento embrionário externo ao sistema reprodutivo materno); e gonocórica (gônada feminina e masculina desenvolvida separadamente em cada indivíduo). Mas, informações sobre o comportamento reprodutivo do suruvi são escassas. Zaniboni-Filho et al. (2010) e Agostinho et al. (2003), o descrevem como migrador de pequenos deslocamentos e que, portanto, não consegue completar o ciclo de maturação gonadal quando mantido em cativeiro, necessitando dos tradicionais processos de seleção de reprodutores e posterior indução hormonal.

Considerando o ciclo reprodutivo do suruvi em ambiente natural Meurer e Zaniboni-Filho (2000) verificaram que o mesmo apresenta desova total, concentrada durante a primavera, com a liberação de ovócitos com diâmetro médio de 1,43 mm e fecundidade relativa média de 16.090 ovócitos/kg de peixe. Reynate-Tataje et al.

(2012) observaram a presença de ovos, no rio Uruguai, entre os meses de outubro e novembro. Quando mantidas em cativeiro fêmeas de *S. scriptum* apresentaram gônadas em processo de regressão no mês de dezembro (MEURER e ZANIBONI-FILHO, 2000). As observações destes estudos demonstram que esta espécie apresenta curto período reprodutivo, ocorrendo desovas concentradas entre os meses de outubro e dezembro.

O *S. scriptum* está listado no livro vermelho das espécies brasileiras ameaçadas de extinção (AGOSTINHO et al., 2008), o conhecimento sobre a biologia reprodutiva e a reprodução em cativeiro de espécies vulneráveis contribui para a manutenção das populações, assim como para o estabelecimento de tecnologias de cultivo para o desenvolvimento da aquicultura.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Estabelecer protocolo para seleção de fêmeas de suruvi *Steindachneridion scriptum* aptas ao tratamento hormonal para indução à desova.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir o diâmetro ovocitário modal das fêmeas aptas ao tratamento de indução à reprodução;
- Descrever as fases de desenvolvimento ovocitário do suruvi.

JUSTIFICATIVA

O suruvi é uma espécie ameaçada de extinção e dessa forma necessita de estudos que visem a sua conservação. Além disso, apresenta características importantes para a sua inserção na piscicultura sul brasileira, tais como: alto valor de mercado tanto pelo sabor da sua carne quanto pelo seu porte; resistência às temperaturas mais baixas durante o inverno, mantendo sua atividade alimentar durante todo o ano e já está inserido na pesca regional.

O conhecimento das fases morfológicas dos ovócitos durante o ciclo de maturação gonadal, e a seleção de fêmeas maduras para a reprodução em cativeiro, são informações que podem contribuir para a manutenção das populações naturais, além de auxiliar no estabelecimento de tecnologias de cultivo para o desenvolvimento do setor produtivo. A obtenção dessas informações pode dar suporte para elaboração de um pacote tecnológico do cultivo do suruvi, possibilitando o seu cultivo em diferentes regiões geográficas do sul do Brasil.

CAPÍTULO 1 - DIÂMETRO OVOCITÁRIO PARA SELEÇÃO DE FÊMEAS MADURAS DE SURUVI *Steindachneridion scriptum* EM CONDIÇÕES DE CATIVEIRO

RESUMO

O objetivo do trabalho foi determinar o padrão de distribuição de frequência dos diâmetros ovocitários que melhor representa as fêmeas maduras de *Steindachneridion scriptum*. As fêmeas que apresentavam ovócitos nas amostras obtidas por biópsia ovariana ($n = 33$) foram selecionadas e seus ovócitos divididos em duas subamostras, uma para mensuração dos diâmetros e outra para análise histológica. E então submetidas ao tratamento hormonal com extrato hipofisário de carpa para induzir a maturação final e desova dos ovócitos. De acordo com a resposta à indução hormonal e as taxas de fertilização e eclosão as fêmeas foram divididas em três distintos grupos definidos. Grupo A ($n=12$): Fêmeas que desovaram e produziram ovócitos viáveis, havendo fertilização dos ovos e eclosão de larvas apresentou padrão da distribuição de frequência dos diâmetros dos ovócitos exclusivamente unimodal com valores modais entre 1624,20 e 1777,70 μm . Grupo B ($n=6$): Fêmeas que responderam ao tratamento hormonal, desovaram, mas produziram ovócitos que praticamente não fertilizaram ou não eclodiram, os valores modais foram representados pelas classes de tamanho de 1317,2 e 1777,7 μm , com distribuição unimodal e bimodal; Grupo C ($n=15$): Fêmeas que não responderam ao tratamento hormonal e não liberaram ovócitos, os valores modais variaram de 549,7 a 1931,2 μm , com distribuição unimodal, bimodal e polimodal.

Palavras-chaves: biópsia intraovariana, reprodução de peixes, diâmetro dos ovócitos.

OOCYTE DIAMETER FOR SELECTION OF FEMALES OF SURUVI *Steindachneridion scriptum* IN CAPTIVITY

ABSTRACT

The aim was to determine the pattern of oocyte diameter frequency distribution in mature females of *Steindachneridion scriptum*. Females which had oocytes in samples obtained by intra-ovarian biopsy ($n = 33$) were selected and them oocytes divided into two subsamples, one for measurement of diameter and one for histological analysis. And then, they were subjected to hormonal treatment with carp pituitary extract to

induce the final maturation and spawning. According to the response to hormonal induction and success in spawning, females were divided into three distinct groups. Group A ($n = 12$) Females that had spawned and produced viable oocytes, with fertilization of eggs and hatching larvae, had a unimodal percent frequency distribution of oocyte diameters, with 1624.2 and 1777.7 μm . Group B ($n = 6$): Females which released eggs, but no fertilization or hatching was obtained, modal values between 1317.2 e 1777.7 μm , with unimodal and bimodal distribution of oocyte diameters. Group C ($n = 15$): Females which did not spawned, the modal values ranged from 549.7 to 1931.2 μm with unimodal, bimodal and polymodal distribution.

Keywords: intraovarian biopsy, fish reproduction, oocyte diameter.

INTRODUÇÃO

Steindachneridion scriptum (Ribeiro, 1918), espécie popularmente conhecida como suruvi ou bocudo, é uma representante da ordem dos Siluriformes e da família Pimelodidae. Encontrada nas bacias hidrográficas do rio Uruguai e alto rio Paraná (GARAVELLO, 2005), essa espécie encontra-se listada no livro vermelho das espécies brasileiras ameaçadas de extinção (AGOSTINHO et al., 2008). O conhecimento sobre a biologia reprodutiva de espécies vulneráveis contribui para a definição de estratégias de manejo destinadas a manutenção destas, assim como para o entendimento das técnicas de reprodução em cativeiro, que podem ser utilizadas para ações de conservação e para o desenvolvimento da aquicultura.

Informações sobre o comportamento reprodutivo do suruvi são escassas. Contudo, Zaniboni-Filho et al. (2010) e Agostinho et al. (2003) descrevem a espécie como sendo migradora que realiza pequenos deslocamentos e que, portanto, não consegue completar o ciclo de maturação gonadal quando mantida em condições de cativeiro, necessitando dos tradicionais processos de seleção de reprodutores para posterior indução hormonal.

Para obter sucesso na reprodução de peixes em cativeiro, é necessário realizar a seleção de indivíduos maduros que apresentam maior probabilidade de responder positivamente ao processo de indução hormonal da maturação final e desova (CAROLSFELD, 1989; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Carolsfeld (1989) considera essa

etapa a mais importante para o sucesso da desova. O processo de seleção consiste na escolha de exemplares que completaram a vitelogênese e que estejam com os ovários no “período de dormência” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Zaniboni-Filho et al. (2010) descrevem as dificuldades encontradas para selecionar fêmeas maduras de suruvi, pois estas apresentam sinais externos menos evidentes do que o observado para outras espécies, sendo que são indicações normalmente utilizadas para a identificação de fêmea madura, como as descritas por Woynarovich e Horváth (1983): abdômen dilatado e macio, papila genital intumescida e avermelhada. Essa dificuldade exige a busca de métodos mais objetivos e eficientes para selecionar fêmeas de suruvi que estejam aptas à reprodução induzida.

Algumas técnicas são utilizadas para facilitar a seleção de fêmeas maduras, entre elas a realização de biópsias intraovarianas para a análise da distribuição da frequência dos diâmetros ovocitários (SHEHADEH et al., 1973; FENERICH-VERANI et al., 1984; ROMAGOSA et al., 1990), no entanto, sem nenhuma informação relativa a seleção de *S. scriptum*. Levando em conta os resultados apresentados por esses autores, forma-se a hipótese de que é possível aplicar a mesma técnica para selecionar fêmeas maduras de suruvi.

Com isso o presente trabalho tem como objetivo determinar o padrão de distribuição de frequência dos diâmetros ovocitários que melhor representa as fêmeas maduras de *S. scriptum*, aquelas que se encontram aptas ao início da reprodução induzida.

MATERIAL E MÉTODOS

O plantel de reprodutores utilizado é composto por exemplares da primeira geração filial (F1) de progenitores selvagens capturados no Alto rio Uruguai, tendo sido produzidos a partir de reprodução induzida realizada no ano de 2009 pelo Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD/UFSC). Todos os exemplares estão identificados individualmente com marcas internas do tipo PIT-tag (Passive Integrated Transponder) e estavam estocados em unidades de piscicultura situadas em três municípios de Santa Catarina, representando distintas macrorregiões do estado (Vale do Itajaí e Planalto Norte em tanques escavados em estações de piscicultura da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI); Meio Oeste em tanques-rede de 8m³ alocados no reservatório da usina hidrelétrica de Itá).

Os peixes foram alimentados diariamente com ração comercial contendo de 32 a 40% de proteína bruta *ad libitum*, duas vezes ao dia. Os exemplares foram manuseados para a seleção de fêmeas maduras apenas dentro do período reprodutivo da espécie, compreendido entre setembro e dezembro.

Em um primeiro momento buscou-se selecionar as fêmeas maduras utilizando o método convencional apresentado por Woynarovich e Horváth (1983), no entanto, esses sinais externos foram pouco expressivos e se mostraram insuficientes para garantir a identificação de fêmeas maduras. Dessa forma, a cada amostragem a totalidade dos peixes estocados foi submetida ao mesmo tratamento. Em cada exemplar foi aplicada uma leve pressão abdominal no sentido anteroposterior, sendo que aqueles que não liberaram sêmen foram caracterizados como sendo fêmeas, e então submetidos ao método de canulação (biopsia gonadal). As fêmeas que apresentavam ovócitos nas amostras obtidas por canulação foram selecionadas e submetidas aos procedimentos de biometria (peso e comprimento total).

As amostras de ovócitos foram coletadas com auxílio de cateter plástico nº10 introduzida na papila urogenital das fêmeas. Somente foram consideradas as amostras que apresentaram número superior a 50 ovócitos. Para a mensuração dos diâmetros dos mesmos uma amostra foi fixada em solução de Gilson modificada (SIMPSON, 1951) por 30 minutos, sendo periodicamente submetida à agitação manual para auxiliar a ação da solução e mantida até a liberação dos ovócitos devido a digestão do estroma ovariano, quando foi transferida para álcool 70° GL (VAZZOLER, 1996). Os ovócitos fixados foram fotografados em estereomicroscópio (Leica EZ 4 HD 8x) com auxílio do software LAS EZ e seus diâmetros medidos utilizando o software Ip-win 32. Foi utilizado o valor médio obtido entre o maior e o menor diâmetro de cada ovócito para representá-lo (ZANIBONI-FILHO e RESENDE, 1988).

Os valores dos diâmetros médios foram plotados em gráficos de distribuição de frequência, utilizando o mesmo intervalo, amplitude e número total de classes para todas as fêmeas, a fim de facilitar a comparação entre os gráficos. Foram realizados os cálculos de curtose e assimetria para cada fêmea.

Outra amostra de ovócitos igualmente obtida por canulação foi fixada em solução Karnovsky (1965) (Paraformol 2% + Glutaraldeído 2% + Tampão fosfato 0,1 M – pH 7,4) por um período de 4 horas, e a seguir processada segundo as técnicas rotineiras de inclusão em parafina e coloração hematoxilina-eosina. As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (LEICA ICC50 HD) e fotografadas utilizando o

software LEICA EZ, sendo as fases de desenvolvimento dos ovócitos caracterizadas conforme metodologia descrita por Vazzoler (1996).

Todas as fêmeas que apresentaram ovócitos no momento da canulação foram submetidas aos procedimentos de reprodução induzida com extrato hipofisário de carpa (EPC), segundo protocolo sugerido por Zaniboni-Filho e Barbosa (1996).

Os gametas de ambos os sexos foram extrusados manualmente através de massagem abdominal realizada imediatamente após a ovulação das fêmeas, sendo primeiramente obtidos os ovócitos e posteriormente o sêmen dos machos para a imediata fertilização.

Imediatamente após a desova, a totalidade dos ovócitos extrusados foi pesada e uma pequena amostra de ovócitos (cerca de 0,5g) foi coletada e pesada para posterior contagem e determinação da fecundidade absoluta (número de ovócitos obtidos de cada fêmea) e da fecundidade relativa individual (número de ovócitos obtidos por unidade de peso corpóreo).

Os ovócitos de cada fêmea foram fertilizados a seco com o uso de uma solução composta por sêmen obtido de 8 machos, em volumes semelhantes, e os ovos distribuídos em incubadoras cilíndrico-cônicas com fluxo ascendente.

A taxa de fertilização foi estimada entre 8 e 10 horas após a junção dos gametas, sendo considerados ovos viáveis aqueles que se apresentavam na fase do fechamento do blastóporo (REYNATE-TATAJE et al., 2002). Uma amostra de cada incubadora foi retirada e um total de 100 ovos foi avaliado com auxílio de estereomicroscópio para determinar a fase do desenvolvimento embrionário. Esse procedimento foi repetido por três vezes e a média do número de ovócitos na fase de fechamento do blastóporo representa a taxa de fertilização da incubadora.

Após a eclosão, foi quantificada a totalidade das larvas presentes em cada incubadora, permitindo assim estimar a taxa de eclosão, que tomou por base o número de ovócitos fertilizados, portanto, passíveis de completar o desenvolvimento embrionário e eclodir.

RESULTADOS

Foram identificados três grupos distintos de fêmeas de *S. scriptum* de acordo com a resposta à indução hormonal: as que produziram ovos viáveis; aquelas que liberaram ovócitos com viabilidade baixa ou nula e as que não responderam positivamente ao tratamento e assim não ovularam. As fêmeas de cada um desses grupos

que apresentavam similaridade nos valores modais de diâmetro ovocitário, de curtose e assimetria foram agrupadas e representadas por um único histograma.

Grupo A - Fêmeas que desovaram e produziram ovócitos viáveis, havendo fertilização dos ovos e eclosão de larvas ($n = 12$). A desova ocorreu de 5 a 9 horas após a aplicação da segunda dose de hormônio e apresentaram taxas de fertilização e eclosão média de 26,24 e 37,8%, respectivamente (Tabela 1).

A distribuição de frequência dos diâmetros dos ovócitos dessas fêmeas foi exclusivamente assimétrica negativa. Os valores de curtose variaram de -0,76 a 3,04, sendo que 75% das fêmeas apresentaram curtose positiva (Figura 6 A, B e D).

Destacaram-se dois valores modais 1624,2 e 1777,7 μm com distribuição unimodal (Figura 6).

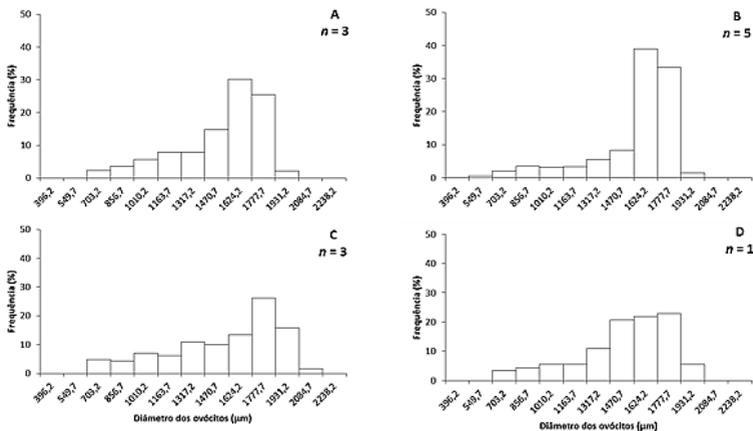


Figura 5. Distribuição de frequência percentual do diâmetro dos ovócitos de suruvi, *Steindachneridion scriptum* do Grupo A (fêmeas que responderam ao tratamento hormonal e produziram ovócitos viáveis) $n = 12$.

Grupo B - Fêmeas que responderam ao tratamento hormonal, desovaram, mas produziram ovócitos que praticamente não fertilizaram ou não eclodiram ($n = 6$). Apesar da liberação de ovócitos por extrusão, de 6 a 12 horas após a segunda aplicação de EPC, a taxa de fertilização dos ovos e de eclosão das larvas foi nula ou extremamente baixa, com valores médios de 4,59 e 0,16%, respectivamente (Tabela 1).

A distribuição de frequência percentual dos diâmetros ovocitários apresentou assimetrias tanto negativas quanto positivas, com

padrão unimodal ou bimodal. Os valores de curtose variaram de -1,26 a 0,70, sendo que 66,7% destes eram negativos (Figura 7 A, D e E).

Os valores modais foram representados pelas classes de tamanho de 1317,2 e 1777,7 μm , além da participação variável da classe de ovócitos com diâmetro de 1931,2 μm (Figura 7).

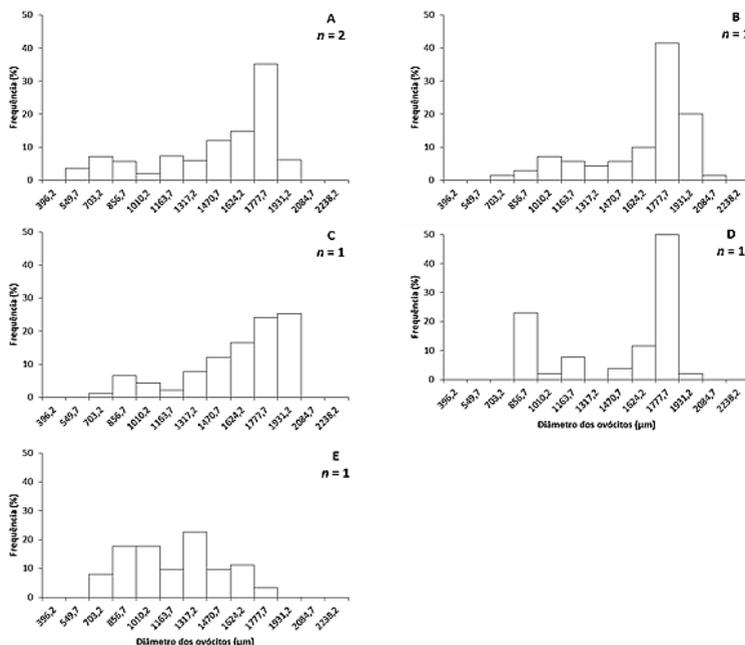


Figura 6. Distribuição de frequência percentual do diâmetro dos ovócitos de suruvi, *Steindachneridion scriptum* do Grupo B (fêmeas que produziram ovócitos com viabilidade baixa ou nula) $n = 6$.

Grupo C - Fêmeas que não responderam ao tratamento hormonal e não liberaram ovócitos ($n = 15$).

A distribuição percentual dos valores do diâmetro dos ovócitos apresentou características unimodal, bimodal ou polimodal. Com assimetrias tanto negativas quanto positivas e valores de curtose variando de -1,40 a 5,56, sendo que 53,3% desses valores foram negativos (Figura 8 B, C e F).

Os valores modais variaram de 549,7 a 1931,2 μm (Figura 8).

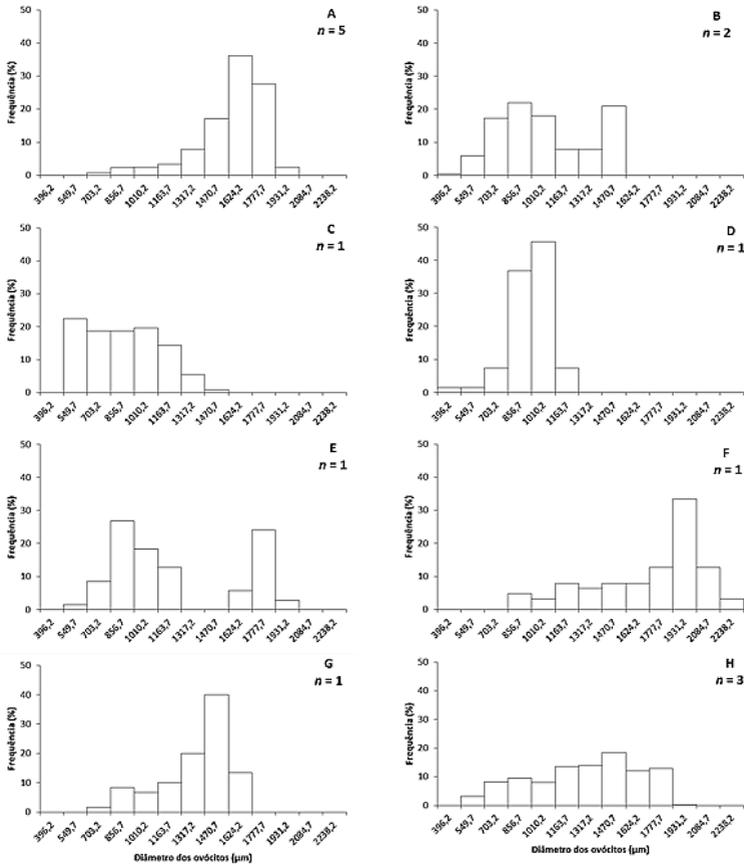


Figura 7. Distribuição de frequência porcentual do diâmetro dos ovócitos de suruvi, *Steindachneridion scriptum* do Grupo C (fêmeas que não desovaram) $n = 15$.

Através da análise histológica da amostra obtida da fêmea (Figura 8 F) que apresentou o maior valor modal (1931,21 µm), podem ser observados muitos ovócitos que demonstravam sinais de atresia folicular, como a ruptura da membrana vitelínica e o citoplasma desorganizado (Figura 9 A). Dentre as fêmeas (Figura 8 B, C, D, E, G e H) com valor modal $\leq 1470,70$ µm, foi observada a predominância de ovócitos em início de vitelogênese lipídica, com o aparecimento de vacúolos lipídicos, ou do estoque de reserva (Figura 9 B).

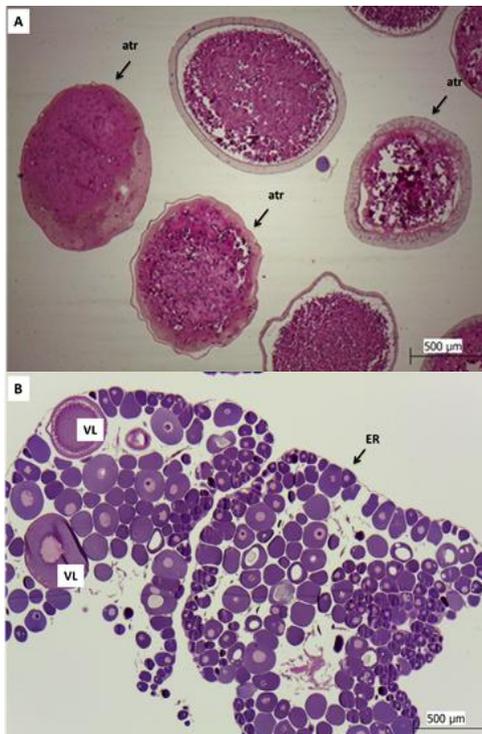


Figura 8. (A) Ovócitos com sinais de atresia folicular (atr) obtidos da fêmea que apresentou ovócitos com maior diâmetro modal (1931,21 μm). (B) Ovócitos em vitelogênese lipídica (VL) e do estoque de reserva (ER) de fêmeas que apresentaram ovócitos com diâmetro modal $\leq 1470,70 \mu\text{m}$.

As fêmeas dos Grupos C com diâmetro modal entre 1624,2 e 1777,7 μm e distribuição unimodal demonstraram, através da análise histológica dos ovócitos, a presença de folículos atresícos (Figura 9).

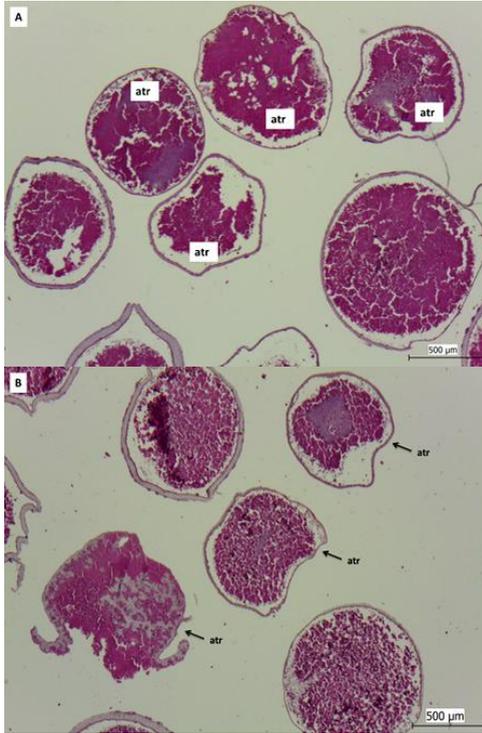


Figura 9. Análise histológica de ovócitos de fêmeas do Grupo C (fêmeas que não desovaram) com distribuição unimodal e modas entre 1624,2 e 1777,7 μm . Presença de folículos atrésicos (atr).

Dentre as fêmeas de suruvi de todos os grupos que apresentaram distribuição unimodal com modas entre 1624,2 e 1777,7 μm (Figuras 6 A, B, C e D; 7 A e B; 8 A) ($n=20$), um total de 60% respondeu positivamente à indução hormonal e produziu ovócitos viáveis.

Tabela 1. Variáveis reprodutivas das fêmeas de *S. scriptum* dos diferentes grupos. As variáveis estão apresentadas como média (\pm desvio-padrão).

Parâmetro	Grupos de fêmeas		
	A	B	C
<i>N</i>	12	6	15
Peso (g)	1436,25 (458,84)	1430,67 (415,16)	1626,81 (513,30)
Comprimento (cm)	52,67 (5,91)	51,87 (6,21)	52,78 (5,88)
Peso da desova (g)	17,46 (11,5)	11,23 (10,18)	0
Diâmetro ovocitário (μm)	1530,3 (48,75)	1466,6 (158,28)	1327,56 (275,75)
Fecundidade relativa (n° ovócitos/kg de fêmea)	4870 (2526)	3020 (2948)	0
Taxa de fertilização (%)	26,24 (18,41)	4,59 (11,26)	0
Taxa de eclosão (%)	38,8 (28,5)	0,16 (0,41)	0
Número de larvas	11287	16	0

* *Grupo A* - Fêmeas que desovaram e produziram ovócitos viáveis, havendo fertilização dos ovos e eclosão de larvas. *Grupo B* - Fêmeas que responderam ao tratamento hormonal, desovaram, mas produziram ovócitos que praticamente não fertilizaram ou não eclodiram. *Grupo C* - Fêmeas que não responderam ao tratamento hormonal e não liberaram ovócitos.

DISCUSSÃO

Todas as fêmeas que desovaram havendo fertilização dos ovos e eclosão de larvas apresentaram, no momento que foram selecionadas para iniciar o tratamento hormonal, seus diâmetros ovocitários modais entre 1624,2 e 1777,7 μm e com distribuição unimodal. Essas fêmeas responderam positivamente ao tratamento hormonal e produziram ovócitos viáveis, comprovado pela existência de fertilização e da eclosão de larvas. Isso indica que os ovócitos com esse diâmetro completaram a vitelogênese e estavam no “período de dormência”, nestas a indução hormonal foi eficaz para estimular a maturação final, ovulação e a liberação dos ovócitos.

As fêmeas que apresentaram diâmetro modal superior a essa faixa de tamanho não apresentaram sucesso na desova, tendo sido comprovado pela análise histológica que já haviam iniciado a reabsorção gonadal. Resultados semelhantes foram observados para curimatá (*Prochilodus scrofa*) (FENERICH-VERANI et al., 1984) e para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (ROMAGOSA et al., 1990), além do registrado para o matrinxã (*Brycon cephalus*), onde além de observar uma baixa taxa de fertilização foi verificada uma elevada taxa de deformidade nas poucas larvas produzidas (ROMAGOSA et al., 2001).

As fêmeas de suruvi que tinham os maiores valores de diâmetro da classe modal apresentavam ovócitos atresícos e não tiveram sucesso na indução hormonal, tornando claro que essa é uma característica que deve ser evitada na seleção de fêmeas de suruvi para induzir à desova. Vários autores têm observado que um dos sinais do início da atresia celular é a hipertrofia das células foliculares (RIZZO e BAZZOLI, 1995; MYLONAS et al., 1997; MIRANDA et al., 1999).

Além disso, algumas fêmeas do Grupo C (fêmeas que não desovaram) que apresentaram características unimodais e modas entre 1624,2 e 1777,7 μm também demonstraram grande incidência de folículos atresícos o que pode ter influenciado na resposta à indução hormonal. Decorrido um determinado tempo em que os ovócitos completam a vitelogênese, quando estão preparados para a maturação final e produção de gametas viáveis, caso as condições ambientais e fisiológicas não proporcionem a desova, tem início a reabsorção celular ou atresia folicular (VAZZOLER, 1996; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Os folículos vitelogênicos são mais propensos à atresia do que aqueles que não atingem a vitelogênese (GENTEN et al., 2008), principalmente quando os peixes são mantidos em cativeiro (MIRANDA et al, 1999).

As assimetrias negativas de todas as fêmeas do Grupo A indicam que estas apresentaram seus valores modais dos diâmetros dos ovócitos maiores do que suas médias e que estes valores estão mais concentrados nas classes de tamanho à direita do eixo x.

O valor de curtose pode ser utilizado para descrever o formato da distribuição de frequência, bem como pode ser interpretado como uma medida de unimodalidade *versus* bimodalidade (DARLINGTON, 1970). Valores negativos altos de curtose indicam uma tendência à bimodalidade, sendo que o valor de -1,2 pode indicar um ponto de divisão entre esses dois padrões de distribuição (DECARLO, 1997). No Grupo A o maior valor negativo de curtose foi de -0,76, confirmando o

padrão da distribuição de frequência dos diâmetros dos ovócitos exclusivamente unimodal. Já nos Grupos B e C tiveram valores de curtose menores que -1,2 indicando a tendência à bimodalidade, o que pode ser percebido pelo histograma de frequência.

Os resultados de indução hormonal obtidos com outros siluriformes, utilizando extrato hipofisário de carpa, revelam que a taxa de fêmeas que respondem positivamente ao indutor oscila entre 58,3% e 70,4% *Pseudoplatystoma corruscans* e *Pimelodus maculatus* (SATO et al., 2003); *Pseudoplatystoma* spp. (CREPALDI, 2006); *Sorubim lima* (SHIBATTA et al., 2011). Dessa forma, a aplicação do método de seleção de fêmeas maduras de suruvi pela distribuição de frequência dos diâmetros dos ovócitos pode ser considerada satisfatória, permitindo obter taxa de sucesso semelhante à observada para outros bagres utilizados na piscicultura sul-americana.

CONCLUSÃO

É possível selecionar fêmeas maduras de *S. scriptum* através da análise da distribuição de frequência dos diâmetros dos ovócitos. Devem ser selecionadas para o tratamento de indução hormonal as fêmeas que apresentam padrão de distribuição unimodal e com o diâmetro modal entre 1624,2 e 1777,7 µm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, A. A.; ZANIBONI-FILHO, E.; SHIBATTA, O.; GARAVELLO, J. *Steindachneridion scripta* In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. (Eds). **Livro Vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. V. II. Brasília: MMA, Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, p.239-249, 2008.

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; SUZUKI, H. I.; JÚLIO, H. F. JR. Migratory fish from the upper Parana River basin, Brazil. In: **Migratory Fishes of South America: Biology, Social Importance and Conservation Status**, CAROLSFELD, J.; HARVEY, B.; ROSS, C.; BAER, A. (eds). World Fisheries Trust, The World Bank and The International Development Research Centre: Victoria; p.19–98, 2003.

CAROLSFELD, J. **Reproductive physiology e induced breeding of fish as related to culture of Collossomas**. p.37-73 in Armando

Hernandez (Ed.). Cultivo de Colossoma (SUDEPE-Colciencias-CIID. Canada, 1989.

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. Utilização de hormônios na reprodução induzida do surubim (*Pseudoplatystoma* spp). **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p. 168-173, 2006.

DARLINGTON, R. B. Is kurtosis really “peakedness?”. **The American Statistician**, v.24, n.2, p. 19-22, 1970.

DECARLO, L. T. On the meaning and use of kurtosis. **Psychological Methods**, v. 2, n.3, p.292-307, 1997.

FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, I. L. M.; NARAHARA, M. Y. The size composition of the eggs of curimbatá *Prochilodus scrofa*, Steindachner, 1881 induced to spawn with human chorionic gonadotropin (hCG). **Aquaculture**, v.42, p.37-41, 1984.

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

KARNOVSKY, M. J. 1965 A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p.137A.

MIRANDA, A. C.; 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.

MYLONAS, C. C.; WOODS III, L. C.; ZOHAR, Y. Cyto-histological examination of post-vitellogenesis and final oocyte maturation in captive-reared striped bass. **Journal of Fish Biology**, v. 50, p. 34-39, 1997.

REYNALTE-TATAJE, D.A.; SILVA, P.A.; HERMES-SILVA, S.; ZANIBONI-FILHO, E. Caracterização do desenvolvimento embrionário do suruvi, *Steindachneridion scripta* (PIMELODIDAE). In: **Aquicultura Brasil 2002 - XII SIMBRAQ**, 2002, Goiânia. XII

Simpósio Brasileiro de Aquicultura. Goiânia: Associação Brasileira de Aquicultura, p. 328, 2002.

RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Follicular atresia in curimatá-pioa *Prochilodus affinis* Reinhardt, 1874 (Pisces, Characiformes). **Revista Brasileira de Biologia**, v.55, n.4, p.697-703, 1995.

ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. Y.; BORELLA, M. I.; FENERICH-VERANI, N. Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã, *Brycon cephalus*, induzidas a reprodução. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 27, n. 2, p.139-147, 2001.

ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, E.M. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg, 1895), induced to spawn. **Aquaculture**. v.86, p.105-110, 1990.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, H. P. Reprodução induzida de peixes da Bacia do São Francisco. In. POMPEU, P.S.; GODINHO, H.P. (Org.) **Ichtiofauna de três lagoas marginais do médio São Francisco**. Belo Horizonte: PUC Minas. p.275-289, 2003.

SHEHADEH, Z. H.; KUO, C-M.; MILISEN, K. K. Validation of an in vivo method for monitoring ovarian development in the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). **Journal of Fish Biology**, v.5, p. 489-496, 1973.

SHIBATTA, O. A.; NOVELLI, J. L.; DIAS, J. H. P.; BRITTO, S. G. C.; CAETANO-FILHO, M. Reprodução em cativeiro do jurupicê *Sorubim lima* (Siluriformes, Pimelodidae) por meio de indução hormonal. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.1, p. 363-372, 2011.

SIMPSON, A.C. The fecundity of the plaice. **Fishery Investigation**, v.5, n.17, p.1-27, 1951.

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

WOYNAROVICH E, HORVÁTH L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983.

ZANIBONI-FILHO, E.; BARBOSA, N. D. C. Priming hormone administration to induce spawning of some Brazilian migratory fish. **Revista Brasileira de Biologia**, v.56, n.4, p.655-659, 1996.

ZANIBONI-FILHO, E.; RESENDE, E. K. Anatomia de gônadas, escalas de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei:Characidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 48(4):833-844, 1988.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A. P. P. Reprodução de peixes migradores de água doce do Brasil. In: Cyrino, J. E. O.; Urbinati, E. C.; Fracalossi, D. M.; Castagnolli, N. (Org.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo, p.45-73, 2004.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; HERMES-SILVA, S. Cultivo de bagres do gênero *Steindachneridion*. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Eds). **Espécies Nativas para Piscicultura de Espécies Nativas no Brasil**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2ª ed, p.363-382, 2010.

CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO OVOCITÁRIO DE SURUVI *Steindachneridion scriptum* EM CONDIÇÕES DE CATIVEIRO

RESUMO

As fases de desenvolvimento ovocitário de fêmeas de suruvi (*Steindachneridion scriptum*) mantidas em cativeiro foram descritas. Ovócitos de 21 fêmeas maduras ou em maturação e ovários de 12 fêmeas imaturas, mantidas em sistemas de cultivo, foram fixados em solução de Karnovsky por 4 e 12 horas, respectivamente. Em seguida foram processados através das técnicas rotineiras da histologia, com inclusão em parafina, e coloração em hematoxilina-eosina. As lâminas foram analisadas em microscópio de luz e os ovócitos foram medidos utilizando o software LAS EZ, usando-se a média entre o maior e o menor diâmetro de cada ovócito para representá-lo. Foi possível caracterizar cinco fases que compõem o ciclo completo do desenvolvimento ovocitário de suruvi. FASE I: Ovogônias iniciais com diâmetro médio de $9,5 \pm 4,46\mu\text{m}$; FASE II: Ovócitos do estoque de reserva, diâmetro médio de $67,6 \pm 15,61\mu\text{m}$; FASE III: Ovócitos com vitelogênese lipídica, medindo $175,6 \pm 56,58\mu\text{m}$; FASE IV: Ovócitos com vitelogênese lipídica e protéica, diâmetro médio de $797,65 \pm 136,10\mu\text{m}$; FASE V: Ovócitos com vitelogênese completa com diâmetro médio de $1184,98 \pm 171,13\mu\text{m}$. Os folículos atrésicos foram encontrados em ovários de suruvi em estágio de maturação e maduros.

Palavras-chaves: histologia; ovogênese; reprodução de peixes, vitelogênese

OOCYTE DEVELOPMENT OF THE SURUVI *Steindachneridion scriptum* IN CAPTIVITY

ABSTRACT

The stages of oocyte development of the suruvi females (*Steindachneridion scriptum*) kept in captivity have been described. Oocyte of 21 mature or maturing females and ovaries of 12 immature females were fixed in Karnovsky solution for 4 and 12 hours, respectively. And then were processed through the routine technique of histology, embedded in paraffin, and stained with hematoxylin-eosin. The slides were examined under a light microscope and the oocytes were measured using the LAS EZ software, using the average of the

largest and the smallest diameter of each oocyte to represent it. It was possible to characterize five phases of the complete cycle of oocyte development of suruvi. PHASE I: Initial oogonia with a mean diameter of $9.5 \pm 4,46\mu\text{m}$; PHASE II: Oocytes of the stock of reserves, average diameter of $67.6 \pm 15,61\mu\text{m}$; PHASE III: oocytes with lipid vitellogenesis, measuring $175.6 \pm 56,58\mu\text{m}$; PHASE IV: oocytes with lipid and protein vitellogenesis, mean diameter of $797.65 \pm 136,10\mu\text{m}$; PHASE V: vitellogenic oocytes with a mean diameter of $1184.98 \pm 171,13\mu\text{m}$. The atretic follicles were found in females of suruvi in maturity stage and mature stage.

Keywords: histology, oogenesis, reproduction of fish, vitellogenesis

INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de peixes nativos do Brasil, com potencial para criação em cativeiro, é de peixes reofílicos, que migram em direção à nascente do rio na época da reprodução (PAULINO et al., 2011). Esse comportamento migratório é privado nos viveiros de piscicultura, impedindo que esses peixes atinjam o preparo fisiológico para a reprodução (PEREIRA et al., 2009). Os animais deixam de receber certos estímulos externos e perdem a resposta endócrina apropriada para a indução da maturação gonadal final. Dessa forma os ovários se desenvolvem apenas parcialmente (estágio de vitelogênese completa) e entram no “período de dormência” (ANDRADE e YASUI, 2003).

No “período de dormência” ocorre diminuição da atividade ovariana e sintonia com a adequação das condições ambientais para a liberação dos ovócitos ocorrer numa época em que o meio ambiente estejam mais adequado ao desenvolvimento e sobrevivência da prole (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Essa fase pode durar vários meses e se as alterações no ambiente não forem suficientes para provocar o desenvolvimento dos ovócitos, poderá prosseguir até que ocorra a absorção dos ovócitos. Geralmente, ocasionada por falta de condições ideais para a maturação final e desova, ou por estresse devido a fatores ambientais críticos (e.g. oxigênio, temperatura, etc.), e por manejo inadequado durante a maturação final (HARVEY e CAROLSFELD, 1993; MURGAS et al., 2009).

O sucesso da reprodução em cativeiro requer a seleção de peixes maduros com maior probabilidade de responder positivamente ao processo de indução da maturação final e desova (CAROLSFELD,

1989; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). O processo de seleção consiste na escolha de exemplares que completaram a vitelogênese e que estão com as gônadas no “período de dormência” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Sendo assim, a identificação da etapa em que a ovogênese se encontra é fundamental para a seleção adequada destes animais.

Ovogênese é um processo que compreende a diferenciação, o crescimento e o desenvolvimento de células germinativas femininas e das membranas envoltórias. A dinâmica desse processo é que determinará a escala de maturidade das espécies e por sua vez, as suas táticas utilizadas para obterem sucesso na reprodução (FÁVARO et al., 2005). Os estudos utilizando histologia permitem o conhecimento e a observação mais detalhada desse processo, sendo considerada a mais comum e, geralmente, a mais confiável técnica para avaliar as estratégias e táticas reprodutivas das espécies de peixes (KJESBU, 2010).

Com a realização desse tipo de estudo é possível identificar os mecanismos reprodutivos em peixes, o que é fundamental para a compreensão do ciclo de vida, do estabelecimento de diretrizes aos trabalhos de indução à desova na aquicultura e de normas de controle à exploração pesqueira (ZANIBONI-FILHO e RESENDE, 1988).

A espécie utilizada nesse estudo, *Steindachneridion scriptum* (Ribeiro, 1918), é popularmente conhecida como suruvi ou bocudo, representante da ordem dos Siluriformes e da família Pimelodidae. Encontrada nas bacias hidrográficas do rio Uruguai e alto rio Paraná (GARAVELLO, 2005). Os trabalhos que visam descrever aspectos reprodutivos dessa espécie ainda são escassos. É sabido que o suruvi é uma espécie migradora de pequenos deslocamentos (ZANIBONI-FILHO et al., 2010; AGOSTINHO et al., 2003) e com desova total concentrada durante a primavera (MEURER e ZANIBONI-FILHO, 2000).

Esse trabalho objetiva realizar a primeira descrição e ilustração dos processos de ovogênese de fêmeas de *S. scriptum* mantidas em cativeiro, através de técnicas histológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

As fêmeas de suruvi avaliadas nesse trabalho são da primeira geração filial (F1) de progenitores selvagens capturados no Alto rio Uruguai e produzidos a partir de reprodução induzida realizada em 2009 pelo Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce

(LAPAD/UFSC). Todos os exemplares estão identificados individualmente com marcas internas do tipo PIT-tag (Passive Integrated Transponder).

Para obtenção de ovócitos em todos os níveis de maturação, as fêmeas estavam estocadas em dois diferentes sistemas de cultivo, no entanto, todas eram exemplares da primeira geração filial provenientes da reprodução induzida de reprodutores coletados no alto rio Uruguai. Fêmeas imaturas mantidas em laboratório ($n=12$), com peso e comprimento (média \pm desvio padrão) de $302,63 \pm 76,53$ g e $31,71 \pm 2,59$ cm, respectivamente. Fêmeas em maturação e maduras mantidas em viveiros escavados ($n=21$), com peso e comprimento de $1921,21 \pm 473,79$ g e $54,14 \pm 7,13$ cm, respectivamente.

As fêmeas imaturas foram sacrificadas para a retirada dos ovários em julho de 2013, enquanto que nas fêmeas maduras ou em maturação as amostras de ovócitos foram obtidas através de biópsia ovariana, utilizando cânula plástica nº10, de setembro a dezembro de 2013. Tanto os ovários quanto os ovócitos foram fixados em solução de Karnovsky (1965) modificada (Paraformol 2% + Glutaraldeído 2% + Tampão fosfato 0,1 M – pH 7,4) por 12 e 4h, respectivamente, e em seguida transferidas para álcool 70%. O material foi submetido aos procedimentos histológicos clássicos de desidratação em álcoois de graduação distinta, diafanização e inclusão em parafina. Cortes efetuados em micrótomo de Minnot, com espessura de 4 e 2 μ m para gônadas e ovócitos, respectivamente, foram corados com hematoxilina-eosina segundo Vazzoler (1996) e montadas com Ver-Mont.

As lâminas foram fotografadas em microscópio de luz (LEICA ICC50 HD) e os ovócitos foram medidos utilizando o software LAS EZ. Foi utilizada a média entre o maior e o menor diâmetro de cada ovócito para representá-lo (ZANIBONI-FILHO e RESENDE, 1988).

As fases de desenvolvimento dos ovócitos foram descritas utilizando como referência Vazzoler (1996) e Zaniboni-Filho e Resende (1988).

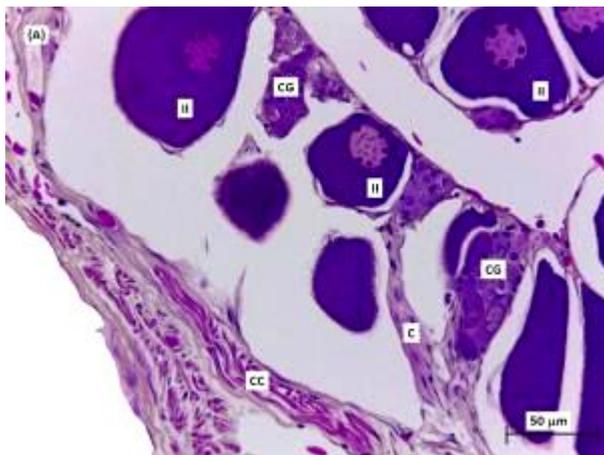
RESULTADOS

As observações histológicas das células germinativas dos ovários de suruvi, feitas em nível de microscopia de luz, permitiram caracterizar cinco fases de desenvolvimento dos ovócitos.

FASE I – Ovogônias iniciais (Figura 9): Células pequenas que aparecem grupadas em “ninhas de células germinativas” (CG) inseridos

nas lamelas ovígeras, em regiões vascularizadas, com diâmetro médio (\pm DP) de $9,5 \pm 4,46\mu\text{m}$ (Figura 13). Apresenta citoplasma escasso e um núcleo grande, arredondado e com pouca afinidade pelos corantes, geralmente com um único nucléolo de posição central e característica levemente basófila.

FASE II – Ovócitos do estoque de reserva (Figura 9): Aparecem, geralmente, separados do grupamento em “ninho”, provavelmente, devido ao aumento de seu volume, apresentando diâmetro médio de $67,6 \pm 15,61\mu\text{m}$ (Figura 13). É observada uma redução na relação núcleo-citoplasma. O citoplasma apresenta-se mais basófilo do que na fase anterior, com uma gradativa diminuição dessa característica de acordo com o aumento do tamanho da célula. O núcleo das células menores apresenta 1 ou 2 nucléolos esféricos e intensamente basófilos, que vão se tornando mais numerosos e volumosos, migrando para a periferia nuclear. É notado que esses ovócitos apresentam diversos formatos, arredondados, triangulares, retangulares ou ovais.



(B)

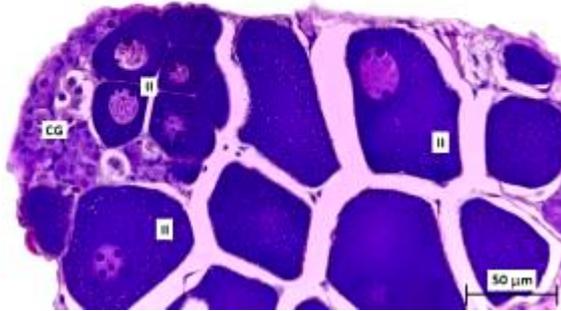


Figura 10. Ovogônias iniciais (CG) e ovócitos do estoque de reserva (II). (CG) Ninhos de células germinativas; (II) Ovócitos da fase II; (CC) Células conjuntivas; (C) Capilares.

FASE III – Ovócitos com vitelogênese lipídica (Figura 10): Aparecimento de vacúolos lipídicos na periferia do citoplasma com aparência de grânulos translúcidos. O núcleo e o citoplasma crescem em relação à fase anterior, porém, o citoplasma aumenta em maior proporção. Os ovócitos apresentam diâmetro médio de $175,6 \pm 56,58 \mu\text{m}$ (Figura 13). O citoplasma na região perinuclear continua basófilo. O núcleo apresenta-se fracamente corado, com vários nucléolos ocupando a sua periferia. Observa-se o surgimento de uma película acidófila contínua, que é a membrana vitelina, acoplada à membrana citoplasmática do ovócito. Esta aparece rodeada por uma camada de células foliculares. O conjunto ovócito + membrana vitelina + camada de células foliculares é chamado de folículo ovocitário (Figura 10 B).

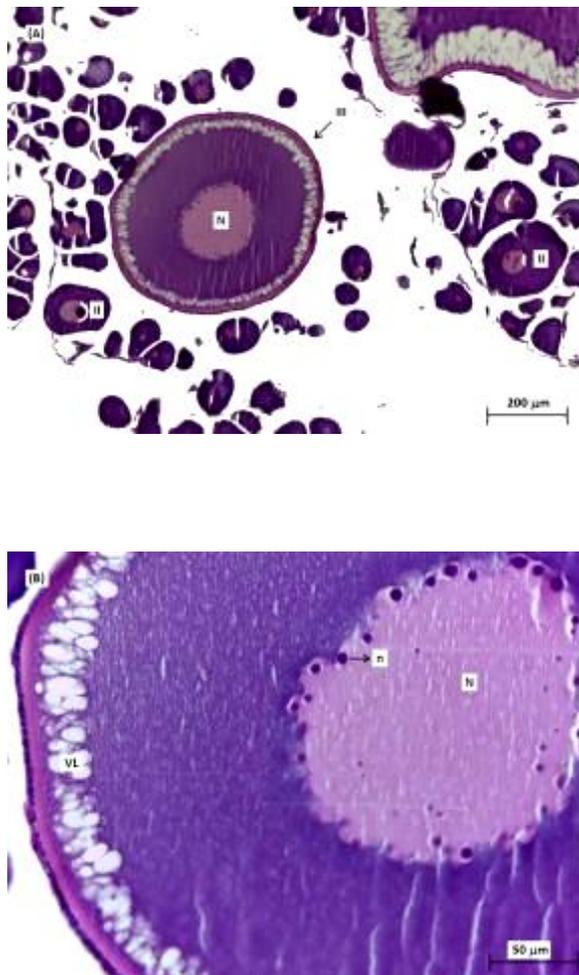


Figura 11. Ovócito em processo de vitelogênese lipídica. (VL) vacúolos lipídicos; (N) núcleo; (n) nucléolos; (II) ovócitos da fase II.

FASE IV – Ovócitos com vitelogênese lipídica e protéica (Figura 11): O diâmetro médio desses ovócitos é de $797,65 \pm 136,10 \mu\text{m}$ (Figura 13). Nessa fase é observado o início da deposição de proteínas na forma de plaquetas acidófilas a partir da periferia do citoplasma. O núcleo continua mantendo as características da fase anterior. O citoplasma se apresenta repleto de grânulos de vitelo que se coram róseos pela eosina. A membrana vitelina torna-se mais espessa e as

células foliculares crescem e tornam-se mais alongadas e evidentes (Figura 11 B).

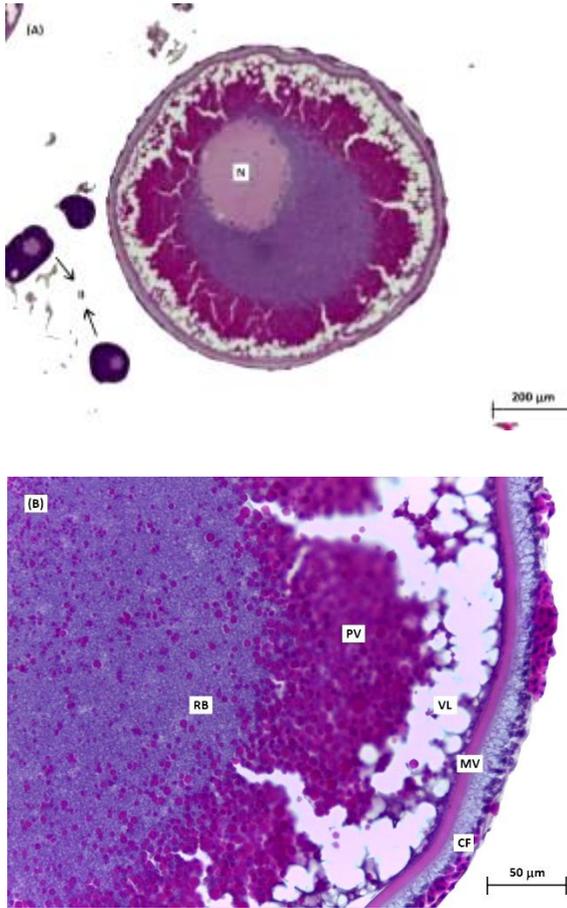


Figura 12. Ovócito em processo de vitelogênese lipídica e protéica. (N) núcleo; (VL) vacúolos lipídicos; (MV) membrana vitelina; (PV) plaquetas vitelinas; (RB) região basófila perinuclear; (CF) células foliculares; (II) ovócitos da fase II.

FASE V – Ovócitos com vitelogênese completa (Figura 12): A basofilia desaparece quase totalmente. O núcleo mantém suas características, com nucléolos bem pequenos, perde sua forma esférica e contrai-se. A membrana vitelina pode tornar-se mais espessa e apresentar estrias de disposição radial (zona radiata) (Figura 12 B). Aparentemente, são as células mais maduras observadas na linhagem

germinativa, ocorrendo apenas em ovários maduros, com diâmetro médio de $1184,98 \pm 171,13 \mu\text{m}$ (Figura 13).

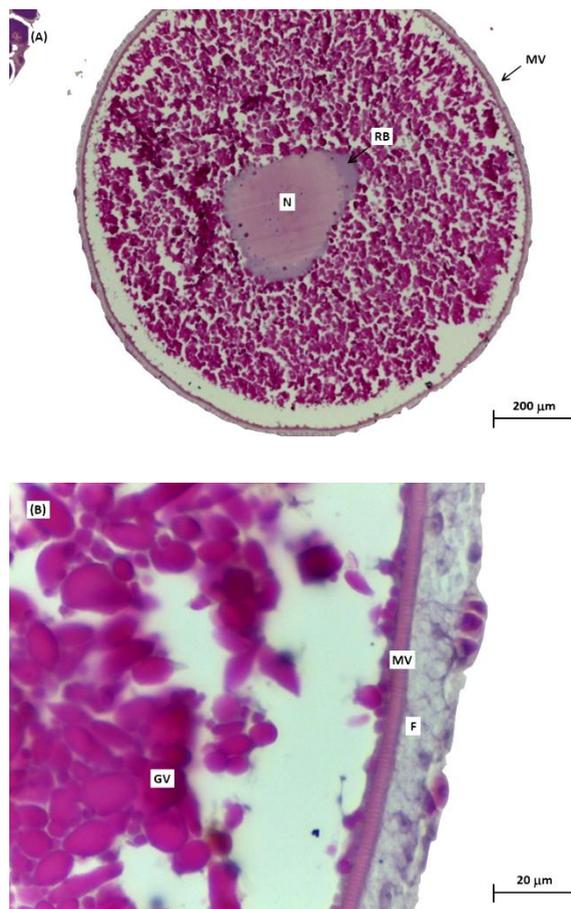


Figura 13. Ovócitos com vitelogênese completa. (MV) membrana vitelina; (GV) grânulos de vitelo; (F) células foliculares; (N) núcleo; (RB) citoplasma basófilo.

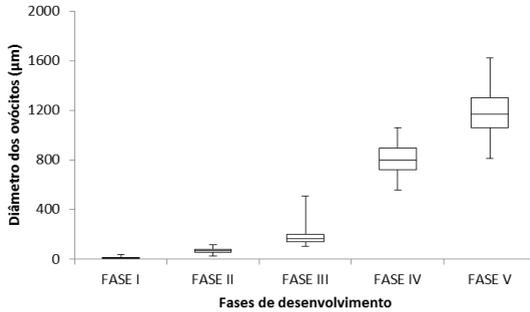


Figura 14. Representação gráfica dos valores mínimos, máximos e médios do diâmetro dos ovócitos de *S. scriptum* em cada fase de desenvolvimento.

O folículo atrésico não foi considerado como fase de desenvolvimento ovocitário e sim como estrutura derivada do processo de ovogênese (Figura 6).

FOLÍCULO ATRÉSICO – Foi observada a ruptura da membrana vitelina e os grânulos de vitelo vão gradativamente perdendo sua individualidade, transformando-se em uma massa com característica acidófila (Figura 6 B). O núcleo não é visível.

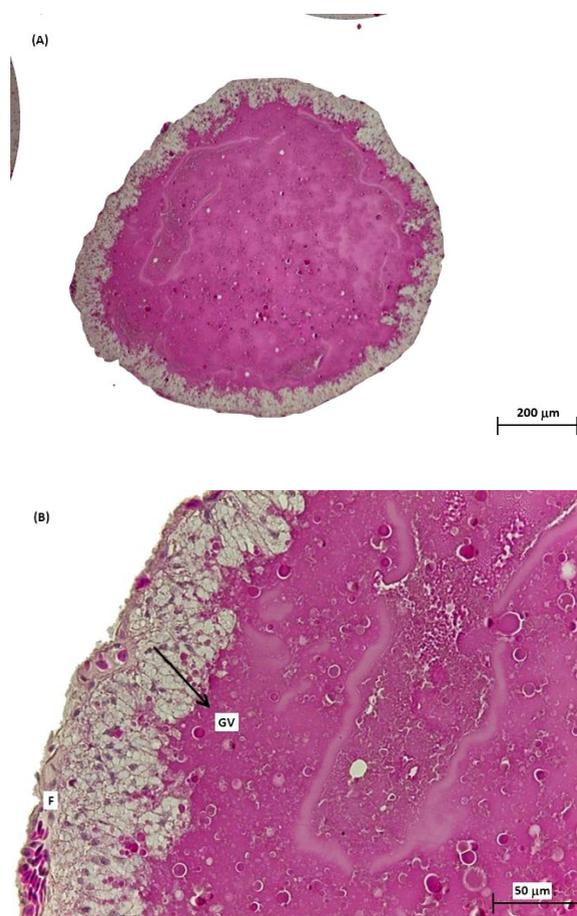


Figura 15. Folículo atrésico. (GV) grânulos de vitelo perdendo sua individualidade; (F) células foliculares; Seta indicando a ruptura da membrana vitelina.

DISCUSSÃO

O número de fases de desenvolvimento ovocitário pode variar de acordo com a espécie e com os critérios utilizados pelos autores (FÁVARO e CHAVES, 1999). Para o *S. scriptum* o processo da ovogênese foi dividido em cinco fases, considerando as ovogônias como sendo a FASE I. Alguns autores também consideram as ovogônias como sendo as células iniciais do processo de ovogênese (VAZZOLER, 1996; ZANIBONI-FILHO e RESENDE, 1988; FÁVARO e CHAVES, 1999;

FÁVARO et al., 2005; SANTOS et al., 2006), porém, outros autores não incluem as ovogônias nas fases de desenvolvimento ovocitário. (GONÇALVES et al., 2006; NÚÑEZ e DUPONCHELLE, 2009).

Na fase II os ovócitos apresentam citoplasma e nucléolos extremamente basófilos, sendo associado a intensa síntese proteica (FÁVARO e CHAVES, 1999; TAKAHASHI et al., 2008). Ovócitos nessa fase foram observados em lâminas de fêmeas em todos os estádios de maturação gonadal, diferentemente das ovogônias que foram encontradas apenas em fêmeas imaturas. A ocorrência dos ovócitos da fase II em todos os estádios de maturação é esperada, pois consistem nos ovócitos do “estoque de reserva” os quais darão origem as populações celulares que vão iniciar a vitelogênese no período reprodutivo seguinte (VAZZOLER, 1996; GANECO et al., 2001).

Na fase III ocorreu o aparecimento de vacúolos lipídicos a partir da periferia do citoplasma, avançando para o interior da célula, assim como observado para *Brycon orbignyianus* (GANECO et al., 2001), *Cathorops spixii* (FÁVARO et al., 2005) e *Brycon orthotaenia* (GONÇALVES et al., 2006) e diferentemente do encontrado para *Katsuwonus pelamis* (GRANDE et al., 2012), onde o surgimento dessas estruturas iniciou ao redor do núcleo se deslocando para a periferia da célula com o desenvolvimento do ovócito. Nessa fase ocorreu o aparecimento da membrana vitelina e da camada de células foliculares, o que tornou mais clara a identificação desse estágio de desenvolvimento, assim como o observado para *Hypostomus strigaticeps* (TAKAHASHI et al., 2008).

Os ovócitos com vitelogênese proteica e lipídica (Fase IV) foram caracterizados pela presença de plaquetas vitelinas altamente acidófilas e a membrana vitelina e as células foliculares mais evidentes. Os ovócitos mais desenvolvidos dessa fase irão evoluir para a vitelogênese completa e serão liberados na próxima desova (NÚÑEZ e DUPONCHELLE, 2009).

Nos ovócitos com vitelogênese completa (Fase V) é possível perceber o citoplasma repleto de grânulos de vitelo de característica acidófila, semelhante ao observado para vários peixes de água doce (ZANIBONI-FILHO e RESENDE, 1988; GONÇALVES et al., 2006; NÚÑEZ e DUPONCHELLE, 2009). Nessa fase, os ovócitos dos peixes de água doce estão prontos para serem eliminados do folículo (VAZZOLER, 1996). Quando a vitelogênese é completada, inicia um período de diminuição da atividade ovariana até que as condições ambientais estejam adequadas para o desenvolvimento dos ovos e sobrevivência da prole (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Os folículos atrésicos são ovócitos que iniciam o processo de desenvolvimento ovocitário, podendo concluí-lo ou não, porém são reabsorvidos antes que possam ser liberados. O desenvolvimento folicular é paralisado e tem início os processos degenerativos (atresia) (VAZZOLER, 1996).

Esses folículos foram encontrados em ovários de suruvi em estágio de maturação e maduros. A presença de atresia folicular é um processo comum, observado em ovários de vertebrados tanto em ambiente natural como em condições de cativeiro (SAIDAPUR, 1978), no entanto, alguns fatores podem aumentar a atresia folicular, podendo inclusive afetar negativamente a fecundidade (SHARMA e BHAT, 2014).

CONCLUSÃO

Foi possível caracterizar cinco fases que compõem o ciclo completo do desenvolvimento ovocitário de *Steindachneridion scriptum*: Ovogônias iniciais (FASE I); Ovócitos do estoque de reserva (FASE II); Ovócitos com vitelogênese lipídica (FASE III); Ovócitos com vitelogênese lipídica e protéica (FASE IV); Ovócitos com vitelogênese completa (FASE V).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; SUZUKI, H. I.; JÚLIO, H. F. JR. Migratory fish from the upper Parana River basin, Brazil. In: CAROLSFELD, J.; HARVEY, B.; ROSS, C.; BAER, A. (eds). **Migratory Fishes of South America: Biology, Social Importance and Conservation Status**. World Fisheries Trust, The World Bank and The International Development Research Centre: Victoria; p.19–98, 2003.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.2, p.166-172, 2003.

CAROLSFELD, J. Reproductive physiology e induced breeding of fish as related to culture of Colossomas. In: ARMANDO HERNANDEZ (Ed.). **Cultivo de Colossoma** (SUDEPE-Colciencias-CIID. Canada. p.37-73, 1989.

FÁVARO, L. F.; CHAVES, P. T. C. Aspectos morfológicos e citoquímicos da ovogênese de *Hypostomus cf. tietensis* (Loricariidae) do Lago Igapó I (Londrina, PR, Brasil). **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba. v. 28, n.1,2,3,4, p.125-139, 1999.

FÁVARO, L. F.; FREHSE, F. A.; OLIVEIRA, R. N.; SCHWARZ JÚNIOR, R. Reprodução do bagre amarelo, *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), da Baía de Pinheiros, região estuarina do litoral do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.22, n.4, p.1022-1029, 2005.

GANECO, L. N.; NAKAGHI, L. S. O.; URBINATI, E. C.; DUMONTNETO, R.; VASQUES, L. H. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, durante o ciclo reprodutivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.27, n.2, p.131 – 138, 2001.

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

GONÇALVES, T. L.; BAZZOLI, N.; BRITO, M. F. G. Gametogenesis and reproduction of the matrinxã *Brycon orthotaenia* (Günther, 1864) (Pisces: Characidae) in the São Francisco river, Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.66, p.513-522, 2006.

GRANDE, M.; MURUA, H.; ZUDAIRE, I.; KORTA, M. Oocyte development and fecundity type of the skipjack, *Katsuwonus pelamis*, in the Western Indian Ocean. **Journal of Sea Research**, v.73, p.117-12, 2012.

HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. Fish reproductive endocrinology. In: **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: IDRC, cap. 2, p. 5-33, 1993.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p.137A, 1965.

KJESBU, O. S. The utility of gonadal histology in studies of fish reproduction and the subsequent management of fisheries and ecosystems. In: WYANSKI, D. M.; BROWN-PETERSON, N. J. (Eds.)

Proceedings of the 4th Workshop on Gonadal Histology of Fishes. El Puerto de Santa Maria, Espanha. p.11-14, 2010.

MEURER, S.; ZANIBONI-FILHO, E. O suruvi *Steindachneridion scripta* Ribeiro, 1918, como espécie alternativa para a piscicultura sul brasileira. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA**, 11, Florianópolis. Anais. Florianópolis BMLP, p.152, 2000.

MURGAS, L. D. S.; DRUMOND, M. M.; JUNQUEIRA, G.; PEREIRA, M. Manipulação do ciclo e da eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento**, v.6, p.70-76, 2009.

NÚÑEZ, J.; DUPONCHELLE, F. Towards a universal scale to assess sexual maturation and related life history traits in oviparous teleost fishes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.35, p.167-180, 2009.

PAULINO, M. S.; MILIORINI, A. B.; MURGAS, L. D. S.; LIMA, F. S. M.; FELIZARDO, V. O Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimba induzidos com extrato de buserelina. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.37, n.1, p.39-45, 2011.

PEREIRA, G. J. M.; MURGAS, L. D. S.; SILVA, J. M. A.; MILIORINI, A. B.; LOGATO, P. V. R.; LIMA, D. Indução da desova de curimba (*Prochilodus lineatus*) utilizando eCG e EBHC. **Revista Ceres**, v.56, n.2, p.156-160, 2009.

SAIDAPUR, S. K. Follicular atresia in the ovaries of nonmammalian vertebrates. **International Review of Cytology**, v.5, p.225-244, 1978.

SANTOS, J. E.; PADILHA, G. E. V.; BOMCOMPAGNI-JÚNIOR, O.; SANTOS, G. B.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Ovarian follicle growth in the catfish *Iheringichthys labrosus* (Siluriformes: Pimelodidae). **Tissue and Cell**, v.38, p.303-310, 2006.

SHARMA, R. K.; BHAT, R. A. Histomorphology of atretic follicles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Kashmir. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v.2, n.4, p.21-26, 2014.

TAKAHASHI, E. L. H.; GOITEIN, R.; NAKAGHI, L. S. O. Maturidade do ovário no cascudo *Hypostomus strigaticeps*

(Siluriformes, Loriicaridae). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v.30, p.107-112, 2008.

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

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A. P. O. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. In: **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, p. 45-73, 2004.

ZANIBONI-FILHO, E.; RESENDE, E. K. Anatomia de gônadas, escalas de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei:Characidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.48, n.4, p.833-844, 1988.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; HERMES-SILVA, S. Cultivo de bagres do gênero Steindachneridion. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Eds). **Espécies Nativas para Piscicultura de Espécies Nativas no Brasil**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2ª ed, p.363-382, 2010.

CONCLUSÕES GERAIS

O objetivo geral do trabalho foi atendido através da confecção destes dois capítulos. No capítulo 1 foi possível alcançar os objetivos propostos de estabelecer protocolo para seleção de fêmeas de suruvi aptas ao tratamento hormonal para indução à desova e definir o diâmetro ovocitário modal das fêmeas aptas ao tratamento de indução à reprodução. O resultado obtido é que fêmeas que apresentaram seus diâmetros ovocitário modais contidos entre as classes de 1624,20 e 1777,70 μm e distribuição unimodal, considerando a amostra obtida na biopsia feita durante a seleção dos reprodutores, produziram os melhores resultados de indução à desova. Algumas fêmeas ($n = 8$) que não desovaram ou não obtiveram taxas de fertilização dos ovos ou eclosão de larvas, apresentaram esse mesmo padrão na distribuição percentual dos diâmetros ovocitário. Apesar disso, foi visto que é possível selecionar fêmeas maduras de suruvi através do diâmetro dos ovócitos e que essa metodologia poderá ser utilizada em estações de piscicultura, permitindo obter taxa de resposta ao indutor hormonal semelhante ao observado para outros bagres utilizados na piscicultura sul-americana.. No capítulo 2 o objetivo de descrever e ilustrar pela primeira vez as fases de ovogênese de suruvi, também, foi alcançado. Obtendo como resultado a caracterização de cinco fases que compõem o ciclo completo do desenvolvimento ovocitário de *S. scriptum*: Ovogônias iniciais (FASE I); Ovócitos do estoque de reserva (FASE II); Ovócitos com vitelogênese lipídica (FASE III); Ovócitos com vitelogênese lipídica e protéica (FASE IV); Ovócitos com vitelogênese completa (FASE V).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

AGOSTINHO, A. A.; ZANIBONI-FILHO, E.; SHIBATTA, O.; GARAVELLO, J. *Steindachneridion scripta* In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. (Eds). **Livro Vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. V. II. Brasília: MMA, Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, p.239-249, 2008.

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; SUZUKI, H. I.; JÚLIO, H. F. JR. Migratory fish from the upper Parana River basin, Brazil. In: **Migratory Fishes of South America: Biology, Social Importance and Conservation Status**, CAROLSFELD, J.; HARVEY, B.; ROSS, C.; BAER, A. (eds). World Fisheries Trust, The World Bank and The International Development Research Centre: Victoria; p.19–98, 2003.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.27, n.2, p.166-172, Abr/Jun, 2003.

BLYTHE, B.; HELFRICH, L. A.; BEAL, W. E.; BOSWORTH, B.; LIBEY, G. S. Determination of sex and maturational status of striped bass (*Ah-one saxatilis*) using ultrasonic imaging. **Aquaculture** 125, 175-184, 1994.

BLYTHE, B.; HELFRICH, L. A.; BEAL, W. E.; BOSWORTH, B.; LIBEY, G. S. Determination of sex and maturational status of striped bass (*Ah-one saxatilis*) using ultrasonic imaging. **Aquaculture** 125, 175-184, 1994.

BRZUSKA, E. The in vivo method of estimating the stages of oocyte maturation in carp (*Cyprinus carpio* L.). **Acta Hydrobiology**, v.21, p.423-433, 1979.

CAROLSFELD, J. **Reproductive physiology e induced breeding of fish as related to culture of Colossomas**. p.37-73 in Armando Hernandez (Ed.). Cultivo de Colossoma (SUDEPE-Colciencias-CIID. Canada, 1989.

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.

Utilização de hormônios na reprodução induzida do surubim (*Pseudoplatystoma* spp). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.168-173, 2006a.

CREPALDI, D. V.; TEIXEIRA, E. A.; FARIA, P, M. C.; RIBEIRO, L. P.; SATURNINO, H. M.; MELO D. C.; SOUSA, A. B.; CARVALHO, D. C. A ultra-sonografia na piscicultura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.174-181, 2006b.

CUETO, J. A. M. Cerebro y reproducción en peces: bases neurales y neuroendocrinas. In: CARRILO, M. A. **La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura**. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Madri, 718p. 2009.

FAO – Food and Agriculture Organization. **The state of world fisheries and aquaculture**. Opportunities and challenges. Fisheries Department, Rome, Italy, 243 p., 2014.

FÁVARO, L. F.; FREHSE, F. A.; OLIVEIRA, R. N.; SCHWARZ JÚNIOR, R. Reprodução do bagre amarelo, *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), da Baía de Pinheiros, região estuarina do litoral do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 22, n.4, p.1022-1029, 2005.

FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, I. L. M.; NARAHARA, M. Y. The size composition of the eggs of curimatá *Prochilodus scrofa*, Steindachner, 1881 induced to spawn with human chorionic gonadotropin (hCG). **Aquaculture**, v.42, p.37-41, 1984.

HARVEY, B.; AND J. CAROLSFELD. **Induced breeding in tropical fish culture**. IDRC, Ottawa, 1993.

ITANI, A. L.; ARAÚJO, M. L.; SANTOS, A. J. G. **Reprodução induzida da curimatã (*prochilodus* sp) utilizando dois tipos de liberadores da gonadotropina**. X JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX 2010 – UFRPE: Recife, 18 a 22 de outubro de 2010.

KJESBU, O. S. The utility of gonadal histology in studies of fish reproduction and the subsequeunte management of fisheries and ecosystems. **Proceedings of the 4th Workshop on Gonadal Histology of Fishes**. p.278, 2010.

MAÑANÓS, E.; DUNCAN, N.; MYLONAS, C. Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRÁEZ, P. (Ed.) **Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species**. Ed. Taylor e Francis. p.549, 2008.

MARTIN-ROBICHAUD, D. J.; ROMMENS, M. Ultrasound assessment of sex and maturity. **Aquaculture Research**, v.32, p.113-120, 2001.

MATTSON, N. S. A new method to determine sex and gonad size in live fishes by using ultrasonography. **Journal of Fish Biology**, v.39, p.673-677, 1991.

MEURER, S.; ZANIBONI-FILHO, E. O suruvi *Steindachneridion scripta* Ribeiro, 1918, como espécie alternativa para a piscicultura sul brasileira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 11, Florianópolis. Anais. Florianópolis BMLP, p.152, 2000.

MURGAS, L. D. S.; DRUMOND, M. M.; JUNQUEIRA, G.; PEREIRA, M. Manipulação do ciclo e da eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento**. n.6, p.70-76, 2009.

NARAHARA, M. Y.; ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; GODINHO, H. M. Reprodução induzida da pirapitinga-do-sul, *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819), mantida em condições de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1070-1075, 2002.

PANKHURST, N. W.; MUNDAY, P. L. Effects of climate change on fish reproduction

and early life history stages. **Marine and Freshwater Research**. v.62, p.1015–1026, 2011.

PAULINO, M. S.; MILIORINI, A. B.; MURGAS, L. D. S.; LIMA, F. S. M.; FELIZARDO, V. O. Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimba induzidos com extrato de buserelina. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.37, n.1, p.39 – 45, 2011.

PEREIRA, G. J. M.; MURGAS, L. D. S.; SILVA, J. M. A.; MILIORINI, A. B.; LOGATO, P. V. R.; LIMA, D. Indução da desova de curimba (*Prochilodus lineatus*) utilizando eCG E EBHC. **Revista Ceres**. v.56, n.2, p.156-160, 2009.

READING, B. J.; SULLIVAN, C. V. **The Reproductive Organs and Processes -Vitellogenesis in Fishes**. North Carolina State University, Raleigh, NC, USA. p.635-645, 2011.

REYNALTE-TATAJE, D. A.; NUÑER, 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, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, v.10, n.4, p.829-835, 2012.

ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, E.M. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg, 1895), induced to spawn. **Aquaculture** v.86, p.105-110, 1988.

STREIT JR, D. P.; MORAES, G. V.; RIBEIRO, R. P.; CARDOZO, R. M.; MOREIRA, H. L. M. As tendências da utilização do extrato de hipófise na reprodução de peixes – Revisão. **Arq. Ciên. Vet. Zoo**. UNIPAR, v.5, n.2, p. 231-238, 2002.

TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Oocyte growth and development in teleosts. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**. v.6, p. 287-318, 1996.

VIVEIROS, A. T. M.; LEAL, M. C.; SALLUM, W. B. **Reprodução das Principais Espécies de Peixes Nativos/** Ana Tereza de Mendonça Viveiros. Lavras: UFLA/FAEPE, il. – Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu" (Especialização) a Distância : Piscicultura. 94p, 2011.

WAITE, R.; BEVERIDGE, M.; BRUMMETT, R. E.; CASTINE, S.; CHAIYAWANNAKARN, N.; KAUSHIK, S.; MUNGKUNG, R.; NAWAPAKPILAI, S.; PHILLIPS, M. Improving productivity and environmental performance of aquaculture. **World Resources Institute**. Working paper. Washington DC: 60p, 2014.

WOYNAROVICH E, HORVÁTH L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983.

YARON, Z.; SIVAN, B. Reproduction. In: EVANS, D. H.; CLAIBORNE, J. B. **The Physiology of Fishes**. 3rd ed.. Ed.Taylor e Francis. p. 361, 2006.

ZANIBONI-FILHO, E.; BARBOSA, N. D. C. Priming hormone administration to induce spawning of some Brazilian migratory fish. **Revista Brasileira de Biologia**, v.56, n.4, p.655-659, 1996.

ZANIBONI-FILHO, E.; MEURER, S.; SHIBATTA, O. A.; NUÑER, A. P. O. **Catálogo ilustrado de peixes do alto rio Uruguai**. Florianópolis: Ed. Da UFSC, 128p., 2004.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A. P. O. **Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, p. 45-73, 2004.

ZANIBONI-FILHO, E.; RESENDE, E. K. Anatomia de gônadas, escalas de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei:Characidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.48, n.4, p.833-844, 1988.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; HERMES-SILVA, S. Cultivo de bagres do gênero Steindachneridion. In: **Espécies Nativas para Piscicultura de Espécies Nativas no Brasil**. BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Eds). Santa Maria, Ed. UFSM, 2ª ed, p.363-382, 2010.

ZANIBONI-FILHO, E.; SCHULZ, U. H. Migratory fishes of the Uruguay River. In: CAROLSFELD, J.; HARVEY, B.; ROSS, C.; BAER, A (Eds). **Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status**. World Fisheries Trust, British Columbia, Canada, p.135-168, 2003.

ZANIBONI-FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.367-373, 2007.

Anexos



Anexo 1. Biopsia ovariana em fêmea de *S. scriptum*. Fonte: Acervo pessoal.



Anexo 2. Coleta de sêmen em macho de *S. scriptum*. Fonte: Acervo pessoal.



Anexo 3. Extrusão de gameta feminino de *S. scriptum*. Fonte: Acervo pessoal.