

# BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *RHINELEPIS ASPERA* (AGASSIZ, 1829) (TELEOSTEI, LORICARIIDAE) NO RIO PARANAPANEMA. II. ESTRUTURA DOS OVÁRIOS E ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

ANGELO A. AGOSTINHO\*, MARILENE C. BARBIERI\*\*, GERALDO BARBIERI\*\*  
e CARLOS S. AGOSTINHO\*

\* Universidade Estadual de Maringá, DBI – Cx. Postal 331 - 87.100 - Maringá - PR

\*\* Universidade Federal de São Carlos 13560 - São Carlos - SP

(Com 3 figuras)

## RESUMO

A morfologia geral e nistologia dos ovários do cascudo *Rhinelepis aspera* durante o seu ciclo reprodutivo são analisadas.

Os ovários são estruturas pares dispostas dorsalmente às alças intestinais e bexiga natatória. O crescimento protoplasmático e vitelogenico dos ovócitos é dividido em cinco estádios: cromatina-nucleólo, perinucleolar, vesícula vitelínica, vitelogênese e maduro. As alterações cíclicas na morfologia dos ovários são descritas também em cinco estádios: imaturo, repouso, maturação, reprodução e esgotado. Estes estádios são caracterizados pelo aspecto macro e microscópico e pelo índice gônado-somático.

*Palavras-chave:* Loricariidae, Oogênese, Reprodução, *Rhinelepis aspera*.

## ABSTRACT

### **The Reproductive Biology of the *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Teleostei, Loricariidae) in the Paranapanema river. II. Structure of The Ovary and Stages of Maturation**

This study is concerned with general morphology and histology of the ovary of armoured catfish "*Rhinelepis aspera*" during its reproductive cycle. The ovaries are paired structures lying dorsal to the alimentary canal and gas bladder.

The protoplasmatic and vitelogenic growth of the oocytes are divided into five stages: chromatin-nucleolus, perinucleolus, yolk vesicle, vitellogenuous and ripe egg. The cyclical morfological changes of the ovaries were also described in five stages: immature, resting, maturation, reproduction and spent. These stages are characterized by the macroscopic and microscopic appearance and gonado somatic index.

*Key words:* Loricariidae, Oogenesis, Reproduction, *Rhinelepis aspera*.

## INTRODUÇÃO

as modificações que estas sofrem ciclicamente nos indivíduos adultos. Poucos, entretanto, referem-se às espécies de águas interiores sul-americanas. A escassez destas informações dificulta, ou mesmo inviabiliza, as tentativas de comparações filogenéticas e ecológicas, de entendimento da dinâmica reprodutiva das populações ou do cultivo experimental das espécies autóctones.

A descrição macro e microscópica dos ovários apresentada neste estudo foi utilizada como base para o estudo da dinâmica reprodutiva do *R. aspera*.

Este trabalho apresenta os resultados da análise das diferentes fases de desenvolvimento dos ovários e ovócitos, com a ordenação das informações em uma escala de maturidade. Na caracterização dos estádios de maturação ovariana são utilizados, além das informações morfológicas, dados gravimétricos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram efetuadas coletas mensais durante o período de maio de 1980 a maio de 1981, no Rio Paranapanema (22°38'S, 51°25'W) com a utilização de redes de espera e tarrafas.

O comprimento total, em centímetros e o peso total, em gramas, foram obtidos para cada exemplar. Após incisão ventromediana e exposição das gônadas, foram identificados o sexo e o estádio de desenvolvimento dos ovários. A identificação dos estádios foi feita com base na forma, cor, transparência, vascularização superficial, flacidez, proporção em relação à cavidade visceral e visualização dos ovócitos. Após serem removidos, os ovários foram pesados e fixados em solução aquosa de Bouin por períodos inferiores a oito horas, sendo em seguida submetidos aos tratamentos histológicos de rotina. Os cortes obtidos foram corados pela técnica da Hematoxilina-Eosina. As dificuldades para o seccionamento de ovários maduros foram satisfatoriamente superadas pelo pincelamento da peça, após cada corte, com solução de celoidina a 2% em mistura álcool-éter em partes iguais (Davis, 1977). Foi estabelecida a relação entre o peso dos ovários e o peso total de exemplares de mesmo estádio de desenvolvimento gonadal, assim como estimado o Índice Gônado-Somático para cada um deles.

## RESULTADOS

### a) Morfologia geral

Os ovários são órgãos pares, saciformes e alongados. Estão dispostos dos lados dos ureteres e bexiga urinária, prendendo-se ao teto da cavidade visceral por curto mesovário. Relacionam-se látero-ventralmente com a bexiga natatória que tem forma

de U cujo vértice os cruza à altura do quarto caudal. Nesta região os ovários apresentam chanfradura onde se aloja o vértice da bexiga natatória e nela ocorre a fusão em órgão único, que se estende até as proximidades da papila urogenital, à qual liga-se por curto oviduto. A cor e o volume dos ovários são notavelmente modificados durante o ciclo reprodutivo. Mostram-se reduzidos e gelatinosos quando em repouso e amarelos nas fases avançadas da maturação e reprodução.

Cortes histológicos transversais revelam que os ovários são órgãos ocos, desprovidos de zona medular, como na maioria dos teleosteos. Sua parede é constituída por três camadas. A mais externa é fina e resultante da projeção da serosa peritonial sobre os órgãos. A túnica albugínea, intermediária, tem natureza conjuntiva, apresentando fibrócitos, células musculares lisas e intensa vascularização. O epitélio germinal projeta-se no lúmen ovariano, formando lamelas ovulíferas. Nestas lamelas, as células germinativas podem se apresentar em diferentes fases de desenvolvimento, conforme o grau de maturação dos ovários.

### b) Desenvolvimento dos ovócitos

As características morfológicas e tintoriais permitiram o reconhecimento de cinco fases distintas de células germinativas (Fig. 1):

(1) *Cromatina-nucleolar*. Células pequenas e organizadas em pequenos ninhos nas lamelas ovulíferas. Apresentam núcleo grande (8  $\mu$ m) ocupando quase todo o volume celular. O nucleoplasma não mostra afinidade pelos corantes utilizados e o nucléolo único é geralmente excêntrico e bem evidente. A cromatina ocorre em grumos irregulares aderidos à face interna da membrana nuclear. O citoplasma escasso, com pouca afinidade tintorial, tem contorno indefinido. No final desta fase o núcleo está aumentado (12  $\mu$ m), a cromatina apresenta-se em grumos esparsos no nucleoplasma e o contorno citoplasmático torna-se evidente.

(2) *Perinucleolar*. Células que se caracterizam pela posição dos nucléolos na periferia do núcleo e a natureza basófila do citoplasma. Compreende duas subfases:

– *Perinucleolar inicial*. São poligonais e variam de 30 a 180  $\mu$ m de diâmetro. O volume nuclear é, ainda, proporcionalmente grande em relação ao citoplasma que é profundamente basófilo. O núcleo vitelínico, inicialmente nas vizinhanças do núcleo, apresenta-se como uma mancha de contorno aproximadamente circular que se diferencia do resto do citoplasma pela granulação mais grossa e basofilia mais acentuada. Com o crescimento do ovócito essa estrutura desagrega-se. Observações "in vivo" de ovócitos nesta fase, sob microscópio estereoscópico, revelam que o núcleo vitelínico apresenta-se como

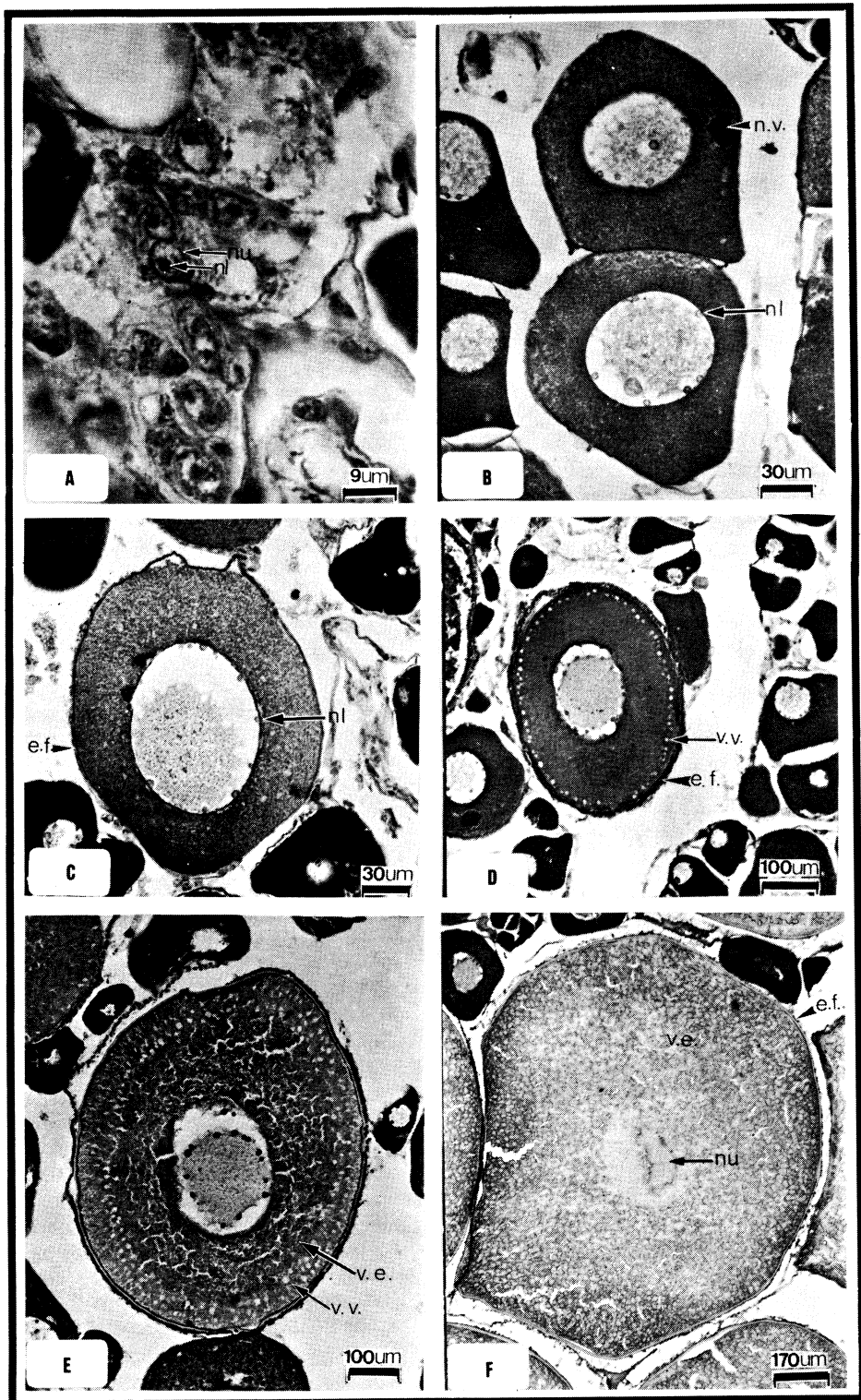


Fig. 1 - Fases de desenvolvimento dos ovócitos de *R. aspera*. A. cromatina nucleolar; B. perinucleolar inicial; C. perinucleolar final; D. vesícula vitelínica; E. vitelogênese; F. ovócito maduro. (e.f. = envoltório folicular; nl = nucléolo; nu = núcleo; n.v. = núcleo vitelínico; v.e. = vitelo extravascular; v.v. = vesícula vitelínica).

um aglomerado de partículas brancas, de contorno semilunar, localizado próximo ao núcleo em ovócitos menores, e como minúsculos pontos brancos dispersos pelo citoplasma hialino nos ovócitos maiores. Nesta subfase os ovócitos estão circundados por delgada camada de células foliculares.

– *Perinucleolar final*. Os ovócitos são aproximadamente esféricos e seus diâmetros variam de 150 a 450  $\mu\text{m}$ . O citoplasma cora-se fracamente pela hematoxilina. O núcleo vitelínico pode, ainda, ser evidenciado nos ovócitos menores. O envoltório folicular é constituído por uma camada interna com núcleos elípticos dispostos em paralelo à superfície do ovócito (camada granulosa), e outra externa, constituída de fibrócitos (camada tecal). No final desta fase, surge entre o ovócito e o envoltório folicular, a zona radiata. É delgada (1,0  $\mu\text{m}$ ) e acelular, corando-se homogeneamente pela eosina.

(3) *Vesícula vitelínica*. Os ovócitos são esféricos, medindo de 400 a 550  $\mu\text{m}$ . O núcleo apresenta evaginações numerosas e pequenas que tornam seu contorno irregular. Os nucléolos ocupam ainda a periferia do núcleo. O citoplasma apresenta vesículas vitelínicas que são estruturas vacuolares com aspecto esvaziado. Localiza-se inicialmente na periferia do citoplasma e, mais tarde, em regiões mais internas até o limite do terço periférico. As camadas envoltórias do citoplasma tornam-se conspícuas: a zona radiata alcança 4  $\mu\text{m}$ , permanecendo entretanto homogênea. As células da granulosa, inicialmente achatadas, tornam-se cuboidais com 5,0  $\mu\text{m}$  de altura.

(4) *Vitelogênese*. Os ovócitos são caracterizados pela deposição de vitelo extravascular e têm diâmetros superiores a 500  $\mu\text{m}$ . No início são depositados como minúsculos grânulos, que se coram em púrpura, na face interna da camada de vesículas vitelínicas. Mais tarde, ocupam todo o ooplasma e tornam-se, por coalescência, maiores. As vesículas vitelínicas, ao final, são empurradas para a periferia, formando uma camada junto à zona radiata. O núcleo tem contorno sinuoso e os nucléolos numerosos mantêm suas posições periféricas. A zona radiata e a camada granulosa, mais evidente, têm espessuras médias de 5,0 e 6,0  $\mu\text{m}$ , respectivamente. A teca permanece, aparentemente, inalterada.

(5) *Ovócito maduro*. Os ovócitos apresentam o ooplasma tomado por grânulos de vitelo. Estes coalescem, formando grânulos maiores (12 a 18  $\mu\text{m}$ ) e ocasionalmente determinando a formação de massas homogêneas em pontos diversos do citoplasma. As vesículas vitelínicas não são evidenciáveis ao nível de magnitude e com os corantes utilizados. O núcleo, quando presente na secção, mostra-se de forma indefinida, membrana nuclear aparentemente ausente e nucléolos inconspícuos. A zona radiata tem estriações bem evidentes e sua espessura varia de 7,0 a 9,5  $\mu\text{m}$ . A camada granulosa, desagregada na maioria

dos ovócitos, alcança 28  $\mu\text{m}$  de espessura e tem aspecto sincicial. Suas células são ricas em inclusões citoplasmáticas. Óvulos recém extruídos, mostram-se amarelo-claros e translúcidos e medem, “in vivo” de 1400 a 1500  $\mu\text{m}$ .

A atresia folicular é constatada especialmente em ovócitos maduros ou em fases iniciais da vitelogênese, embora possa ser registrada esporadicamente em fases anteriores. Nos ovócitos vitelinados, a atresia envolve a desagregação da zona radiata e do núcleo, assim como a liquefação dos grânulos de vitelo. Naqueles avitelinados as características mais relevantes são a desagregação do núcleo e a perda da basofilia pelo citoplasma (Fig. 2G).

No processo de ovulação, o ovócito deixa a camada granulosa e a teca, que constituem o folículo vazio. Logo após a eliminação do ovócito, a estrutura residual mostra o lúmen semi-obliterado e as camadas foliculares apresentam ainda as características enumeradas na fase de ovócito maduro. Mais tarde, a organização em camada é perdida, o lúmen é reduzido e mostra restos celulares e o aglomerado celular resultante desaparece (Fig. 2H).

### c) Escala de maturidade

Cinco estádios de maturação gonadal são reconhecidos (Fig. 2). Os dados da regressão entre o peso dos ovários e peso total para cada estádio são apresentados na Tabela I e os valores médios do IGS na Tabela I e Fig. 3.

(1) *Imaturo*. Os ovários são cilíndricos e pequenos, não alcançando a metade anterior da cavidade visceral. São hialinos e os ovócitos não evidenciam-se a nível macroscópico. Secções histológicas revelam ovócitos na fase perinucleolar inicial, além de numerosos ninhos de células germinativas na fase cromatina-nucleolar. O sexo gonadal já é perfeitamente discernível a olho desarmado.

(2) *Repouso*. Inclui ovários que entram pela primeira vez no ciclo reprodutivo e aqueles que o reinicia. São cilíndricos e translúcidos com leve tonalidade rósea. Os ovócitos são ainda muito pequenos, porém evidenciáveis numa análise macroscópica mais acurada. Os ovários têm comprimentos que ultrapassam a metade da cavidade visceral. A análise microscópica mostra ovócitos nas fases cromatina-nucleolar e perinucleolar inicial, com franco predomínio dos últimos. Em etapas avançadas deste estádio podem ser registrados ovócitos na fase perinucleolar final. O Índice Gônado Somático-médio (IGS) é de  $0,28 \pm 0,004$ .

(3) *Maturação*. Neste estádio os ovários são amarelos e os ovócitos vitelinados podem ser vistos a nível macroscópico. O aumento do volume das gônadas torna evidente um estrangulamento no início do seu quarto caudal, onde se aloja o vértice da bexiga natatória. Este estádio compreende dois subestádios:

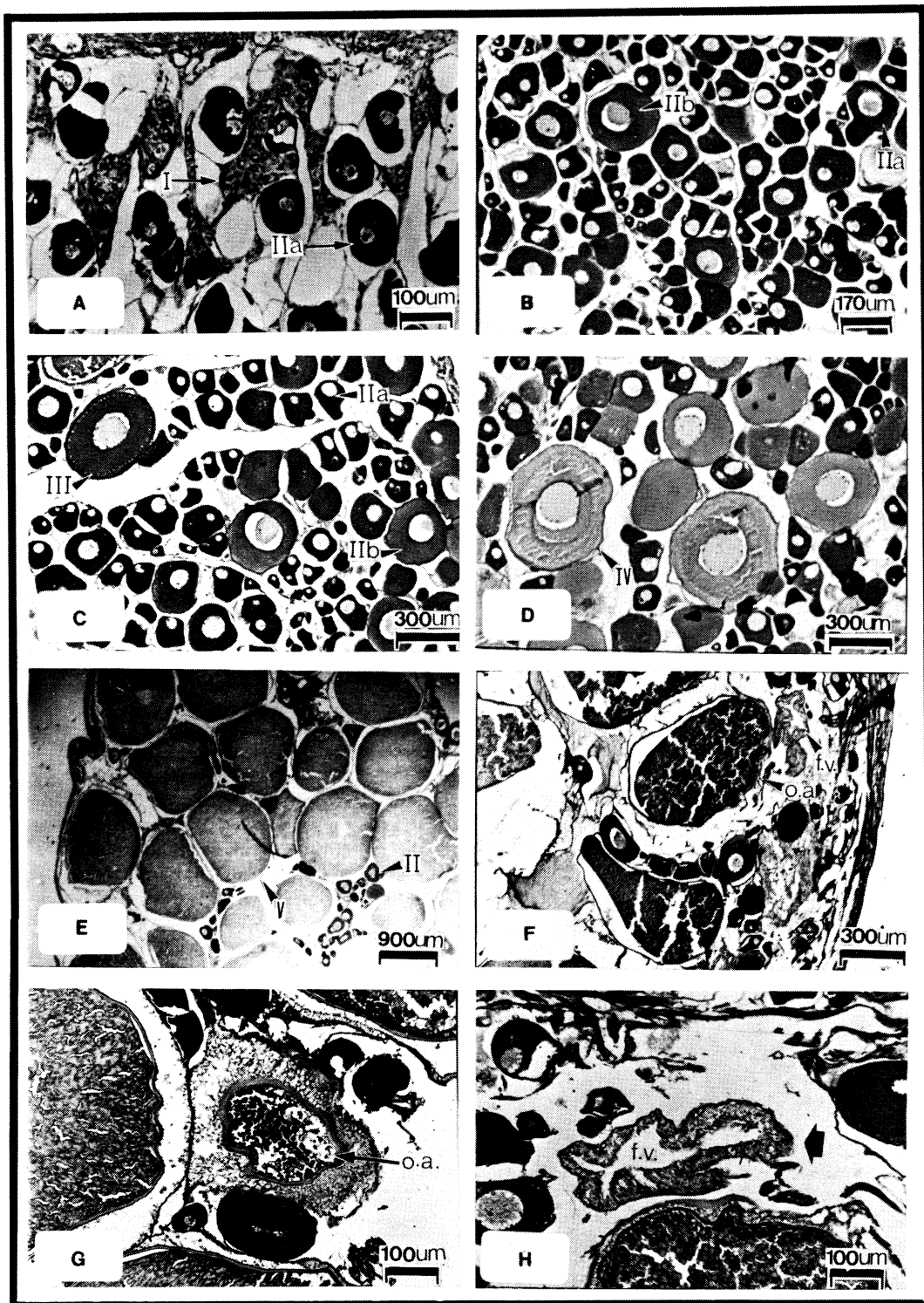


Fig. 2 - Estádios de desenvolvimento dos ovários de *R. aspera*. A. imaturo; B. repouso; C. início de maturação; D. maturação avançada; E. reprodução; F. esgotado; G. detalhe de ovócito atrético (o.a.); H. detalhe de folículo vazio (f.v.). Algarismos romanos indicam fases de desenvolvimento dos ovócitos.

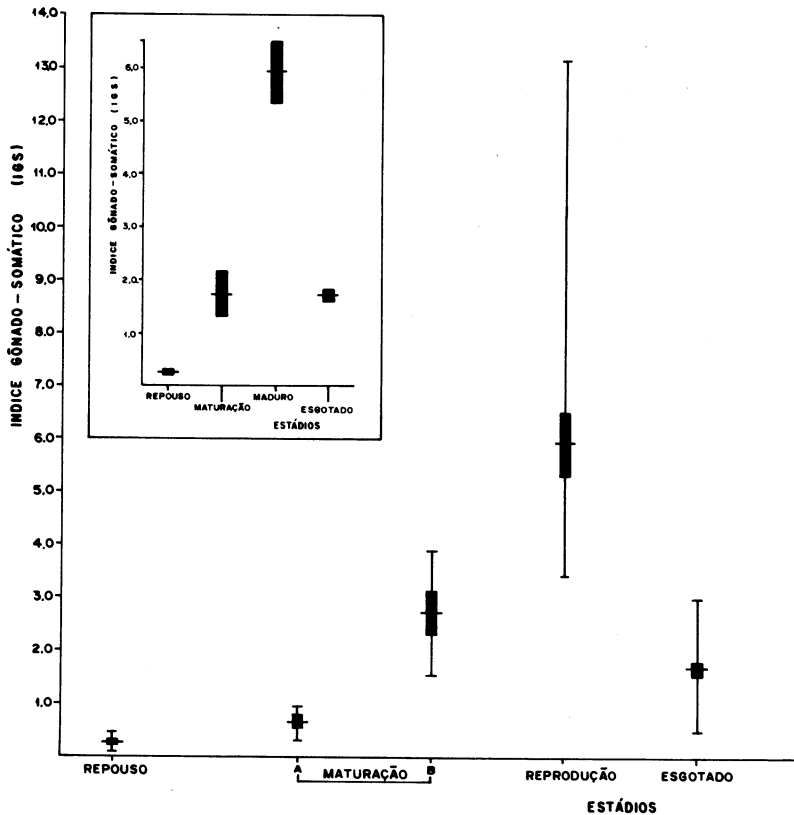


Fig. 3 - Valores médios do IGS (linhas horizontais centrais), seus intervalos de confiança a 95% (barras verticais) e amplitudes de variação (linhas verticais) para os estádios de desenvolvimento dos ovários de *R. aspera*.

• *Início de maturação.* A vascularização dos ovários torna-se evidenciável. Os ovócitos, pequenos, apresentam dois padrões de cor: branco-amarelados e amarelos. À nível microscópico observa-se, além dos ovócitos registrados nos ovários em repouso, as fases de vesícula vitelínica e vitelogênese. Verifica-se um predomínio desta última fase com o avanço da maturação. Entretanto, em nenhum ovócito, os grânulos de vitelo ocupam todo o ooplasma. O IGS médio é de  $0,64 \pm 0,058$ .

• *Maturação avançada.* Os ovários são grandes com estrangulamentos proeminentes. A vascularização é intensa e a coloração amarelada. Os ovócitos são visualizados a olho desarmado, apresentando-se uniformemente amarelos. Secções histológicas mostram ovócitos nas mesmas fases que as enumeradas para o início de maturação. Entretanto aqueles em vesícula vitelínica são raros e a maior parte da secção é ocupada por ovócitos na fase vitelogênese. O IGS é de  $2,74 \pm 0,190$ .

TABELA I

Valores dos coeficientes angulares (B) das regressões entre o peso dos ovários e o peso total, seus intervalos de confiança ( $t.s_{\bar{x}}$ ) e dos coeficientes de correlação linear (r)

Estádio	N	B $\pm$ t.s $_{\bar{x}}$	r	Subestádio	B $\pm$ t.s $_{\bar{x}}$	r
Repouso	450	0,003 $\pm$ 0,001	0,85	-	-	-
Maturação	30	0,018 $\pm$ 0,004	0,52	início	0,006 $\pm$ 0,003	0,70
Reprodução	67	0,065 $\pm$ 0,006	0,79	avançada	0,027 $\pm$ 0,004	0,72
Esgotado	57	0,019 $\pm$ 0,002	0,80	-	-	-

N = número de exemplares

(4) *Reprodução*. Os ovários são volumosos, ocupando quase toda a cavidade visceral, e determinando a distensão do abdôme do animal. São túrgidos, a vascularização é abundante e a túnica ovariana muito delgada. Os ovócitos amarelados extruem espontaneamente. Cortes histológicos revelam ovócitos nas fases cromatina-nucléolo, perinucleolar e maduro, sendo que este último ocupa virtualmente toda a extensão do corte, estando reservado para os primeiros, os interstícios por eles deixado. Registra-se também a este nível, ovócitos em reabsorção e folículos vazios. Alcançam até 12,1% do peso do peixe, sendo o valor médio de  $5,92 \pm 0,283$ .

(5) *Esgotado*. O volume dos ovários neste estágio é notavelmente reduzido. São flácidos, hemorrágicos e apresentam ainda ovócitos vitelinados dispersos em matriz gelatinosa e avermelhada. A nível microscópico evidenciam-se ovócitos nas fases cromatina-nucleolar e perinucleolar, além de frequentes folículos vazios e ovócitos vitelinados em processo de reabsorção. O IGS é de  $1,72 \pm 0,111$ .

## DISCUSSÃO

Os ovários de *R. aspera* apresentam lúmen central contínuo com o oviduto, identificado portanto como do tipo "cistovariano" na classificação de Hoar (1969).

O fato das ovogônias (fase cromatina-nucleolar) serem registradas durante todo o ciclo reprodutivo e em exemplares de diversos tamanhos, leva a crer que elas dêem origem aos ovócitos que ciclicamente são eliminados. Embora não se tenha constatado divisões mitóticas nestas células, a disposição em "ninhos" sugere a ocorrência deste processo. Braekevelt e McMillan (1967) e Mackay (1973) que as registraram em outras espécies, informam que as figuras mitóticas são raras e restritas a uma época do ano. A curta duração da mitose pode, eventualmente, explicar a ausência destas figuras nas secções que analisamos.

A origem dos lotes de ovócitos que anualmente entram em vitelogenese é ainda controversa. As opiniões a respeito podem ser agrupadas em duas correntes principais. A primeira crê que os ovócitos tenham origem nas células somáticas do epitélio folicular (Wheeler, 1924; Yamamoto, 1956a; Andreu e Santos Pinto, 1957). Yamamoto salienta que a curta permanência dos folículos vazios nos ovários da espécie estudada é um fato que corrobora esta origem. Andreu e Santos Pinto (1957) argumentam que não observaram divisões ovogoniais e nem ovogônias em exemplares adultos, mas sim uma intensa atividade mitótica nas células foliculares após a desova. A segunda corrente acredita na origem a partir de ovogônias pré-existentes. Entre as evidências apresentadas por autores desta opinião destacam-se a divisão mitótica das ovogônias em exemplares adultos

(Craig-Bennett, 1931; Braekevelt e McMillan, 1967); a ocorrência concomitante de ovogônias e ovócitos imaturos em ovários em repouso (Belsare, 1962; Lehri, 1968), ou a sua ocorrência em "ninhos" e durante todo o ciclo reprodutivo (Barbieri, 1981; Agostinho *et al.*, 1982).

A elevada frequência de ovogônias (cromatina-nucleolar) nos ovários em recuperação e repouso de *R. aspera* sugere que a proliferação ovogonial deva ocorrer no período subsequente à desova. Este fenômeno é também registrado na pós-desova de outras espécies (De Vlaming, 1972; Forbeg, 1983).

Na fase cromatina-nucleolar, as células germinativas, inicialmente ovogônias, entram na fase sináptica (zigóteno) e dão origem aos ovócitos pós-sinápticos (Yamamoto, 1956b; Tokarz, 1978). Neste estudo, entretanto, não foi possível constatar as alterações nos arranjos cromossômicos relacionados às subfases pré-sináptica, sináptica e pós-sináptica descritas por alguns autores.

Nas fases seguintes do desenvolvimento dos ovócitos ocorrem o crescimento primário (protoplasmático) e secundário (vitelogenico). Ovócitos no final da fase perinucleolar mostram-se em diplóteno (Yamazaki, 1965). Nesta fase Yamamoto e Yoshioka (1964), Rai (1967) e Lehri (1968) registram cromossomos plumulados nas espécies por eles estudadas. A meiose, interrompida na prófase I, parece ser concluída fora do ovário (Mackay, 1973).

A fase perinucleolar do ovócito, aqui caracterizada pela posição dos nucléolos e basofilia do citoplasma corresponde ao grau B descrito por Zunuy e Carrillo (1973), à fase II enunciada por Godinho *et al.* (1974) e Paula-Souza (1978), ou ainda ao "folículo em camada única" referido por Naumov (1959) e Konstantinova e Zubenko (1971). A divisão desta fase em "inicial" e "final" é um procedimento já empregado em outros estudos (Yamamoto e Yamazaki, 1961; Davis, 1977 e Agostinho *et al.*, 1982).

A origem dos nucléolos periféricos tem sido atribuída a sucessivas fragmentações iniciadas no nucléolo grande e único presente na fase de cromatina-nucleolar, seguido da migração dos fragmentos para a periferia do núcleo (Cunningham, 1898; Chaudhry, 1951; Khanna e Pant, 1967; Pollard, 1972). Rai (1967), com a mesma opinião, justifica-a com o fato de que o aumento no número de nucléolos é concomitante com a redução de seus volumes. Entretanto, Yamamoto (1956b), Bara (1960) e McGregor (1972) dão-lhes como origem a fusão de partículas provenientes dos cromossomos.

No final da fase "perinucleolar" e na de "vesícula vitelínica", os nucléolos podem ser vistos em pequenas bolsas, formadas pela membrana nuclear e, mais raramente, no citoplasma. Isto leva a supor que os nucléolos passam para o citoplasma durante o desenvolvimento dos ovócitos. Este processo, registrado para várias espécies por Yamamoto (1956b),

Combs (1969), Khanna e Pant (1967) entre outros, é visto como uma modalidade de extrusão de material ribossômico no ooplasma por McGregor, 1972; Cruz-Landim e Cruz-Hofling, 1979.

O núcleo vitelínico apresenta-se como uma mancha de contorno aproximadamente circular, com granulação e basofilia diferente da do citoplasma circundante. Esta estrutura tem sido observada nos ovócitos da maioria dos teleosteos. Balinsky (1960) informa ser ele constituído por centríolos e centrosomo, circundado pelo aparelho de Golgi, mitocôndrias e grânulos de lipídio. Balinski e Davis (1963), em microscopia eletrônica, relatam que ele é constituído por mitocôndrias cimentadas por material eletrodenso. Nayyar (1964) faz relato similar, registrando também massas lipídicas.

Dois tipos de substâncias foram observadas nos ovócitos da espécie estudada: o vitelo intravesicular e o extravascular. Não constatamos as gotas lipídicas observadas por Yamamoto e Yoshioka (1964) nos ovários de *Oryzias latipes*.

O vitelo intravesicular é lavado durante os tratamentos histológicos de rotina, deixando espaços em forma de vesículas. A natureza química deste vitelo tem sido identificada como mucopolissacarídeo pela resposta positiva que dão à reação do PAS (Yamamoto, 1956c; Rai, 1967; Lehri, 1968; Barbieri, 1981). Shahi *et al.* (1979) registram também RNA e informam que este tipo de vitelo tem origem no próprio ovócito. As vesículas vitelínicas, depositadas no terço externo do citoplasma, são mais tarde encurradas para a periferia pelo vitelo extra vesicular. O acúmulo de vesículas formado abaixo da zona radiata é referido como alvéolo cortical, por Pollard (1972), Barbieri (1978) e Wallace e Selman (1979), e está relacionado ao processo de fecundação (Shahi *et al.*, 1979).

A natureza química do vitelo extravascular é identificada como lipo-protéica por Chopra (1958) e Nakagawa e Tsuchiya (1976), fosfo-lipídica por Yamamoto (1957) e triglicerídios associados a lipídios por Braekvelt e McMillan (1967). A coalescência dos dois tipos de vitelo é sugerida por Marza *et al.* (1937) e refutada por Yamamoto (1956c). Este autor justifica sua opinião pelo fato do vitelo intravesicular ter origem e destino distinto do vitelo extravascular.

As estruturas foliculares dos ovócitos da espécie estudada estão organizadas em três camadas distintas: zona radiata, camada granulosa e teca.

A zona radiata, também referida como zona pelúcida (Godinho *et al.*, 1974; Paula-Souza, 1978; Narahara, 1983), cório (Bower e Holliday, 1961; Wourms e Sheldon, 1976), membrana vitelínica (Braekvelt e McMillan, 1967) e oolema (Belsare, 1962), torna-se evidenciável a partir do final do crescimento avitelogênico do ovócito. Mostra-se, desde seu aparecimento, como camada acelular indi-

visa, com o nível de resolução empregado. Configuração semelhante tem sido relatada por Agostinho *et al.* (1982), Chaves e Vazzoler (1984), Barbieri e Barbieri (1985). A organização em duas camadas é, entretanto, registrada em outras espécies por Bara (1960), Pollard (1972) e Narahara (1983). As estrias radiais tornam-se mais conspícuas no ovócito maduro. Estas estrias observadas em microscopia óptica correspondem, a nível ultra-estrutural, a canais atravessados por prolongamentos citoplasmáticos que estabelecem contactos entre o ovócito e a camada granulosa (Hurley e Fisher, 1966). Microvilosidades dos ovócitos atravessando material altamente elétron-denso é, em síntese, a descrição dada por Narahara (1983) a esta zona. A origem da radiata tem sido registrada no ooplasma (Sterba, 1957; Stahl e Leray, 1961) ou nas células foliculares que a envolvem (Cruz-Landim e Cruz-Hofling, 1980). Alguns autores, especialmente entre aqueles cujas espécies estudadas apresentam-na dupla, atribuem origem mista (Chaudry, 1956; Bara, 1960; Narahara, 1983). A função desta camada durante a vitelogenese é intermediar a passagem de substâncias para o interior do ovócito. Mais tarde deve proteger o óvulo das injúrias mecânicas a que está sujeito na água (Hurley e Fisher, 1966) e promover, se for o caso, a aderência do óvulo ao substrato (Greenwood, 1955; Pollard, 1972).

As células da granulosa são inicialmente fusiformes, com achatamento paralelo à superfície do ovócito. Com a vitelogenese tornam-se cuboidais e nos ovócitos maduros tornam-se altas com aspecto sincicial. Modificações similares são relatadas para outras espécies (Beach, 1959; Davis, 1977), embora Pantic e Lovren (1973) informem que em *Serranus scriba* a altura máxima é registrada no início da vitelogenese. O carácter sincicial deve, entretanto, ser aparente em ocorrência da abundância de inclusões protoplasmáticas que camuflam os limites celulares. Isto é corroborado pela individualização destas células no folículo vazio. A grande quantidade de ribossomos, retículo endoplasmático e complexo de Golgi nas células da camada granulosa sugerem intensa atividade de síntese protéica (Hurley e Fisher, 1966; Wourms e Sheldon, 1976; Guraya, 1978). Hurley e Fisher descrevem o fluxo de macromoléculas a partir da granulosa para o ooplasma, através dos canais presentes nesta camada. Para Nicholls e Maple (1972) e Lambert (1970) a abundância de retículo endoplasmático liso e o registro de atividades enzimáticas relacionadas à síntese de esteróides, respectivamente, sugerem que estas células relacionam-se a produção de hormônios esteróides.

A camada mais externa do folículo ovocitário é a teca. Tem natureza conjuntivo-fibrosa e os fibrocitos são dispostos em camada única. Esta camada não tem sua morfologia aparente modificada durante o desenvolvimento do ovócito. Alguns autores, en-



tretanto, descrevem uma teca interna, outra externa (Beach, 1959; Narahara, 1983) e registram nelas uma intensa atividade esteroidogênica (Yamamoto e Ozonato, 1968; Nicholls e Maple, 1972; Guraya, 1978).

A reabsorção dos ovócitos ou atresia folicular é um fenômeno de ocorrência geral entre os teleosteos. Ocorre, normalmente, antes da desova nos ovócitos que falham em alcançar a maturidade e após a desova, naqueles que não foram eliminados. O processo pode, entretanto, ser ampliado quando as condições de maturação e desova forem perturbadas. A reabsorção de todos os ovócitos em vitelogenese é relatada nas espécies estudadas por Shikhshabekov (1971), Barbieri (1981) e Forbeg (1983) quando peixes em pré-desova foram submetidos a condições ambientais adversas.

A relação do folículo atrésico com a remoção dos ovócitos é universalmente aceita, quer promovendo a liquefação e digestão do vitelo, necessárias aos mecanismos de absorção pelos vasos sanguíneos (Beach, 1959), quer atuando diretamente na remoção, fagocitando os grânulos de vitelo (Braekevelt e McMillan, 1967; De Vlaming, 1972; Davis, 1977). Alguns autores têm atribuído função hormonal às células hipertrofiadas do folículo atrésico ou do vazio (Ball, 1960; Hoar, 1969). A função endócrina carece, entretanto, de cabal comprovação (Mackay, 1973).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, A.A., NARAHARA, M.Y. e GODINHO, H.M., 1982, Morfologia dos ovários de *Plecostoriscus commersonii* (Valenciennes, 1840) Osteichthyes, Loricariidae: Desenvolvimento dos ovócitos e escala de maturidade. *Rev. Brasil. Biol.*, 42(1):71-77.

ANDREU, B. y SANTOS PINTO, J., 1957, Características histológicas y biometricas de ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb) en la maduración, puesta e recuperación. Origen de los ovócitos. *Inv. Pesq.*, 4:3-38.

BALINSKI, B.I., 1960, *An introduction to embryology*. W. B. Saunders Company, London, 562 p.

BALINSKI, B.I. and DEVIS, R.J., 1963, Origin and differentiation of the cytoplasmic structures in the oocytes of *Xenopus laevis*. *Acta Embryol. et Morphol. Experiment.* 6:55-108.

BALL, J.N., 1960, Reproduction in female bony fishes *Symposia zool. Soc. London*, 1:105-135.

BARA, G., 1960, Histological and cytological changes in the ovaries of the mackerel *Scomber L.* during annual cycle. *Rev. Fac. Sci. Univ. Inst. B.*, 25:50-91.

BARBIERI, M.C., 1978, *Alguns aspectos da reprodução de Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) na Represa do Lobo. Estado de São Paulo. Tese de Mestrado. Departamento de Ciências Biológicas. Universidade Federal de São Carlos, 97 p.

BARBIERI, M.C., 1981c, *Contribuição ao estudo da biologia de Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na Represa do Lobo, Estado de São Paulo (Pisces, Ostariophysii, Gymnotidae). Tese de doutoramento, Depto Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos.

BARBIERI, M.C. e BARBIERI, G., 1985, Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (SP). Morfologia e Histologia de ovário. Variação sazonal (Teleostei, Gymnotidae).

BEACH, A.W., 1959, Seasonal changes in the cytology of the ovary and of pituitary gland of the goldfish. *Canadian J. Zool.*, 37:615-625.

BELSARE, D.K., 1962, Seasonal changes in the ovary of *Ophecephalus punctatus*. *Indian J. Fish.* 9(1):140-152.

BOWERS, A.B. and HOLLIDAY, F.G.T., 1961, Histological changes in the gonad associated with the reproductive cycle of herring. *Mar. Res.*, 5:3-16.

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

CHAUDHRY, H.S., 1951, Nucleolar activity in the oocytes of some marine teleostean fishes. *J. Roy. micr. Soc.*, 71:87-93.

CHAUDHRY, H.S., 1956, The origin and structure of the zona pellucida in the ovarian eggs of teleosts. *Z. Zellforsch Mikrosk Anat.*, 43:478-485.

CHAVES, P.T.C. e VAZZOLER, A.E.A.M., 1984, Aspectos biológicos de peixes amazônicos. II. Anatomia microscópica de ovários. Escala de maturidade e tipo de desova das espécies do gênero *Semaprochilodus*. *Rev. Brasil. Biol.*, 44(3):347-359.

CHOPRA, H.C., 1958, Morphological and histochemical study of oocytes of the fish, *Barbus ticto* (Punctius), with particular reference to lipids. *Res. Bul. Panjab University*, 152:211-221.

COMBS, R.M., 1969, Embryogenesis, histology and organology of the ovary of *Brevoortia patronus*. *Gulf Research Reports*, 2(4):335-429.

CRAIG BENNETT, A., 1931, The reproductive cycle of the three spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, *Linn. Phil. Trans. R. Soc.*, 219:197-281.

CRUZ-LANDIM, C. e CRUZ-HOFLING, M.A., 1979, Comportamento dos nucléolos e mitocôndrias durante a ovogênese de peixes teleosteos de água doce. *Acta Amazonica*, 9(4):723-728.

CRUZ-LANDIM, C. e CRUZ-HOFLING, M.A., 1980, Formação do cório em ovos de peixes ovíparos (Teleosteos). Estudo ultra-estrutural. *Ci. e Cult. (Supl.)*, 32(7):579.

CUNNINGHAM, J.T., 1898, On the histology of the ovary and the ovarian ova in certain marine fishes. *Quart. J. microsc. Sci.*, 40(1):101-163.

DAVIS, T.L.O., 1977, Reproductive biology of the freshwater cat fish *Tandanus tandanus* Mitchell, in the Gwydir river, Australia. I. Structure of the gonads. *Aust. J. mar Freshwater Res.*, 28(2):139-158.

De VLAMING, V.L., 1972, Reproductive cycling in the estuarine gobiid fish, *Gillichthys mirabilis*. *Copeia*, 1972(2):278-291.

FORBERG, K.G., 1983, Maturity classification and growth of capelin *Mallotus villosus villosus* (M), oocytes. *J. Fish Biol.*, 22:485-496.

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

GREENWOOD, P.H., 1955, Reproduction in the cat fish *Clarias mossambicus* Peters. *Nature*, 176:516-518.

GURAYA, S.S., 1978, Maturation of the follicular wall of non mammalian vertebrates. In JONES, R.E. *The vertebrate ovary*. Plenum Press, N. York, p. 331-360.

HOAR, W.S., 1969, Reproduction. In. HOAR, W.S. and

- RANDALL, D.J. *Fish physiology*. Academic Press, London. v. 3, p. 1-72.
- HURLEY, D.A. and FISHER, K.C., 1966, The structure and development of the external membrane in young eggs of the brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchell). *Can. J. Zool.*, 44:173-190.
- KHANA, S.S. and PANT, M.C., 1967, Seasonal changes in the ovary of a Sisorid Catfish *Glyptosternum pectinopterum*. *Copeia*, 1:83-88.
- KONSTANTINOVA, N.A. and ZUBENKO, V.L., 1971, Oogenesis and maturation of the blue bream *Abramis ballerus* (L.) in Kiev reservoir. *J. Ichthyol.*, 11(4):636-641.
- LAMBERT, J.G.D., 1970, The ovary of the guppy *Poecilia reticulata*. The granulosa cells as sites of steroid biosynthesis. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 15:464-476.
- LEHRI, G.K., 1968, Cyclical changes in the ovary of the catfish *Clarias batrachus* (Linn). *Acta Anat.*, 69(1):105-124.
- MACKAY, N.Y., 1973a, The reproductive cycle of the firetail gudgeon, *Hypseleotris galli*. I. Seasonal histological changes in the ovary. *Aust. J. Zool.*, 21(1):53-66.
- MARZA, V.D., MARZA, E.V. and GUTHRIE, M.J., 1937, Histochemistry of the ovary of *Fundulus heteroclitus* with special reference to the differentiating oocytes. *Biol. Bull.*, 73:67-92.
- McGREGOR, H.C., 1972, Nucleoli and its genes in oogenesis. *Biol. Rev.*, 47:177-219.
- NAKAGAWA, H. and TSUCHIYA, Y., 1976, Studies on rainbow trout eggs (*Salmo gairdnerii irideus*). IV. Changes of lipids composition in yolk during development. *J. Fac. Fish. Anim. Husband.*, 15:35-46.
- NARAHARA, M.Y., 1983, *Estrutura da população e reprodução de Rhamdia hilarii (Valenciennes, 1840) (Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae)*. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- NAUMOV, V.M., 1959, The ovogenesis and ecology of the sexual cycle of the Murmansk herring (*Clupea harengus harengus* L.). *U. S. Fish wild. serv. spec. Sci. Rep. Fish.*, 327:203-261.
- NAYYAR, R.P., 1964, The yolk nucleus of fish oocytes. *Quart. J. micr. Sci.*, 105:353-358.
- NICHOLLS, T.J. and MARPLE, C., 1972, Ultrastructure observations on possible sites of steroid biosynthesis on the ovarian follicular epithelium of two species of Cichlid fish, *Cichlasoma nigrofasciatum* and *Haplochromis multicolor*. *Z. Zellforsch.*, 128:317-335.
- PANTIC, V. and LOVREN, M., 1973, Gametogenesis in *Serranus scriba* (Teleostei). *Cytophysiologie*, 7(2):127-137.
- PAULA-SOUZA, G., 1978, *Reprodução de Rhamdia branneri Haseman, 1911 (Pisces, siluriformes) e suas relações com fatores abióticos*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná.
- POLLARD, D.A., 1972, The biology of a landlocked form of the normally catadromous salmoniform fish *Galaxias maculatus* (JENYNS). III. Structure of the gonads. *Austr. J. mar. Freshwater. Res.*, 23(1):17-38.
- RAI, B.P., 1967, Cyclical changes in the ovary of *Tor (Barbus) tor* (HAM.). *Acta Zool.* 48:289-307.
- SHAHI, R.N.P., MISHRA, A.P. and SINGH, B.R., 1979, Studies on the formation of compound yolk in the developing oocytes of an air-breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). *Cytologia*, 44:397-408.
- SHIKHSHABEKOV, M.M., 1971, The resorption of gonads in some semi-diadromous fish species from the Arakum water bodies (Dagestan) as a result of regulation of the water flow. *Journal Ichthyol.*, 11(3):427-431.
- STAHL, A. et LERAY, C., 1961, L'ovogenèse chez les poissons téléostéens. I. Origine et signification de la zona radiata et de ses annexes. *Arch. Anat. Microsc.*, 90:251-268.
- STERBA, G., 1957, Zur differenzierung der Eihüllen bei knochenfischen. *Zeitschrift für Zellforschung Mikrosk. Anat.*, 46:717-728.
- TOKARZ, R.R., 1978, Oogonial proliferation, oogenesis, and folliculogenesis in nonmammalian vertebrates. In: JONES, R.E. *The vertebrate ovary*. Plenum Press, N. York, p. 145-180.
- WALLACE, R.A. and SELMAN, K., 1979, Physiological aspects of oogenesis in two species of sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*, L. and *Apeltes quadracus* (Mitchell). *J. Fish. Biol.*, 14:551-564.
- WEELEER, J.F.G., 1924, The growth of the egg in the dab (*Pleuronectes limanda*). *Quart. J. Micr. Sc.*, 68:641-660.
- WOURMS, J.P. and SHELDON, H., 1976, Annual fish oogenesis. II. Formation of the secondary egg envelope. *Dev. Biol.*, 50:355-366.
- YAMAMOTO, K., 1956a, Studies on the formation of fish eggs. I. Annual cycle in the development of ovarian eggs in the flounder, *Liopsetta obscura*. *Journ. Fac. Sci. Hokkaido Univ.*, 12:362-373.
- YAMAMOTO, K., 1956b, Studies on the formation of fish eggs. II. Changes in the nucleus of the oocyte of *Liopsetta obscura*, with special reference to the activity of the nucleolus. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool.*, 12:375-390.
- YAMAMOTO, K., 1956c, Studies on the formation of fish eggs. III. Localization of polysaccharides in oocytes of *Liopsetta obscura*. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool.*, 12:391-398.
- YAMAMOTO, K., 1957, Studies on the formation of fish eggs. XI. The formation of a continuous mass of yolk and the chemical nature of lipids contained in it in the oocyte of the flounder, *Liopsetta obscura*. *Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ.*, 13:344-351.
- YAMAMOTO, K. and YAMAZAKI, F., 1961, Rhythm of development in the oocyte of the goldfish, *Carassius auratus*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 12:93-110.
- YAMAMOTO, K. and YOSHIOKA, H., 1964, Rhythm of development in the oocyte of the medaka, *Oryzias latipes*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 15(1):5-19.
- YAMAMOTO, K. and OZONATO, H., 1968, Steroid-producing cells in the ovary of the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Annot. Zool. Jap., Tokyo*, 41(3):119-128.
- YAMAZAKI, F., 1965, Endocrinological studies on the reproduction of the female goldfish, *Carassius auratus* L., with special reference to the function of the pituitary gland. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 13:1-64.
- ZANUY, S. y CARRILLO, Y.M., 1973, Estudio histológico del ovario de cabrilla (*Paracentropristis cabrilla*) en relación con la ovogénesis. *Inv. Pesq.*, 37(1):147-165.