



**CRISTINA LUÍSA CONCEIÇÃO DE OLIVEIRA**

**ANÁLISE COMPARADA DE CARACTERES REPRODUTIVOS E  
DA GLÂNDULA BRANQUIAL DE DUAS ESPÉCIES DE  
CHEIRODONTINAE (TELEOSTEI: CHARACIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação  
em Biologia Animal, Instituto de Biociências da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito  
parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de Concentração: Ictiologia e Herpetologia

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Clarice Bernhardt Fialho

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PORTO ALEGRE  
2003

UFRGS - BIBLIOTECA  
INST. BIOCÊNCIAS

Phomen

ANÁLISE COMPARADA DE CARACTERES REPRODUTIVOS E DA  
GLÂNDULA BRANQUIAL DE DUAS ESPÉCIES DE CHEIRODONTINAE  
(TELEOSTEI: CHARACIDAE)

**CRISTINA LUÍSA CONCEIÇÃO DE OLIVEIRA**

Aprovada em 26/02/2003

---

Prof° Dr. John Robert Burns

---

Dr. Fernando Gertum Becker

---

Dr. Carlos Alberto Santos de Lucena

## SUMÁRIO

### AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS .....	i v
LISTA DE FIGURAS .....	v
LISTA DE TABELAS .....	vi
RESUMO .....	vii
INTRODUÇÃO .....	1
OBJETIVOS .....	8
ÁREA DE ESTUDO .....	9
MATERIAIS E MÉTODOS .....	12
RESULTADOS .....	16
DISCUSSÃO .....	28
CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	43
FIGURAS .....	52
TABELAS .....	74

## LISTA DE FIGURAS

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Clarice Bernhardt Fialho pelas sugestões, ajuda e amizade.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Luiz Roberto Malabarba pela dedicada orientação, sugestões e incentivo.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. John R. Burns, da George Washington University, pelos ensinamentos sobre glândula branquial e gametogênese.

À técnica Circe Machado, do laboratório de Histologia do Departamento de Zoologia, pela ajuda histológica.

À Prof<sup>a</sup> Nívea Lothhammer, do Departamento de Ciências Morfológicas, pela ajuda e pelo empréstimo do laboratório.

Ao colega ictiólogo Fábio Flores Lopes pelos ensinamentos e sugestões em histologia.

Ao Prof. Hélio C. B. Gurgel, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pelo material coletado no rio Ceará-Mirim, Rio Grande do Norte.

À ictióloga Tatiana Dias pela ajuda com o trabalho de fecundidade.

Ao André L. Baptista pelo carinho, estímulo e dedicação.

Aos colegas de laboratório de Ictiologia pela amizade e ajuda no laboratório e nas coletas.

Aos funcionários dos Centros de Microscopia Eletrônica da UFRGS e PUCRS pela ajuda com o trabalho de microscopia eletrônica de varredura.

## LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. **A:** *Compsura heterura* (fêmea, 27 mm CP), rio Ceará-Mirim, Rio Grande do Norte, Brasil. **B:** *Odontostilbe* sp. (fêmea, 39 mm CP), rio Ibicuí-Mirim, Rio Grande do Sul, Brasil..... 52
- Fig. 2. Localidade de coleta de *Compsura heterura*, rio Ceará-Mirim (5° 37' 47" S, 35° 37' 9" O), Rio Grande do Norte, Brasil..... 53
- Fig. 3. Localidade de coleta de *Odontostilbe* sp. no rio Ibicuí-Mirim (29° 50' 14" S, 54° 47' 53" O), entre os municípios de Cacequi e São Vicente, Rio Grande do Sul, Brasil. Imagens do mesmo local, em diferentes períodos. **A:** período de seca inverno. **B:** período de chuva. A seta mostra a mesma casa nos dois períodos..... 54
- Fig. 4. Cortes histológicos de ovários em maturação de *Compsura heterura*. HE. Ovócitos de reserva (OR) de diferentes tamanhos, ovócitos pre-vitelogênicos (PV), núcleos (N) e nucléolos (NU). **A:** (29,08 mm CP), aumento 10x. **B:** (29,51mm CP), aumento 20x..... 55
- Fig. 5. Cortes histológicos em ovários maduros de *Compsura heterura*. HE. **A:** Ovócitos vitelogênicos (V), ovócito pré-vitelogênico (PV), micrópila (M). (27,78 mm CP), aumento 20x. **B:** Zona radiata (ZR) do ovócito vitelogênico (V) e células foliculares (seta). (30,13 mm CP), aumento 100x..... 56
- Fig. 6. Corte histológico de um ovário semi-esgotado de *Compsura heterura*. (30,13 mm CP). HE. **A:** Núcleo (N) e nucléolos (NU) do ovócito de reserva (OR) e espermatozóides (EZ). Tamanho 100x. **B:** Ovócitos de reserva de diferentes tamanhos (OR), vários folículos vazios (FV), ovócito vitelogênico (V) e espermatozóides (setas). Tamanho 10x..... 57
- Fig. 7. **A:** Gônada de um macho imaturo de *C. heterura* (25,87 mm CP). Aumento 40x. **B:** Gônada de um macho em maturação de *Odontostilbe* sp. (37,0 mm CP). Espermatogônias (G), espermátócitos (C), espermátócitos em divisão celular (seta) e espermátides (T). Aumento 100x. .... 58
- Fig. 8. Gônada de um macho maduro de *C. heterura* (27 mm CP). HE. Espermatogônias (G), espermátócitos primários (C1), espermátócitos secundários (C2), e espermátides (T), espermatozóides (EZ). **A:** Aumento 40X. **B:** Aumento 100x..... 59
- Fig. 9. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos espermatozóides de *Compsura heterura* (**A**), com núcleo levemente alongado, e de *Odontostilbe* sp. (**B**) com núcleo arredondado (aquasperma)..... 60

- Fig. 10. Variação mensal das médias de IGS ( $\pm$  desvio padrão) em fêmeas e machos de *Compsura heterura* do rio Ceará Mirim, RN, entre os meses de abril de 2001 e abril de 2002..... 61
- Fig. 11. Foto (MEV) do ovário de uma fêmea madura de *Compsura heterura* (30,4 mm CP), coletada em abril de 2002. Grupo de espermatozóides entre os ovócitos observados em diferentes aumentos..... 62
- Fig. 12. Relação entre fecundidade absoluta (número de ovócitos) e comprimento padrão de fêmeas de *Compsura heterura* (A), do rio Ceará-Mirim, RN, e de *Odontostilbe* sp. (B), do rio Ibicuí Mirim, RS. Coletados entre os meses de abril de 2001 e abril de 2002 e entre os meses de abril de 2001 e março de 2002, respectivamente. .... 63
- Fig. 13. Variação mensal das médias de IGS ( $\pm$  desvio padrão) em fêmeas e machos de *Odontostilbe* sp. do rio Ibicuí Mirim, RS, entre os meses de abril de 2001 e março de 2002. .... 64
- Fig. 14. Distribuição das freqüências absolutas dos comprimentos padrões no primeiro período reprodutivo (setembro/outubro) e segundo período reprodutivo (janeiro/fevereiro) de fêmeas de *Odontostilbe* sp. coletadas no rio Ibicuí-Mirim (RS). CP= comprimento padrão. .... 65
- Fig. 15. Distribuição das freqüências absolutas por classe de comprimento padrão de machos de *Compsura heterura* classificados de acordo com diferentes fases desenvolvimento dos ganchos; coletados no rio Ceará-Mirim, RN, no período de abril de 2001 a abril de 2002. CP= comprimento padrão. .... 66
- Fig. 16. Distribuição das freqüências relativas mensais de machos de *Compsura heterura* classificados de acordo com diferentes fases desenvolvimento dos ganchos. Coletados no rio Ceará- Mirim, RN, durante o período de abril de 2001 a abril de 2002. .... 67
- Fig. 17. Glândula branquial em machos maduros de *Compsura heterura*.  
**A:** Localização da glândula branquial na região anterior do ramo ventral do primeiro arco branquial (seta). Macho de 29,9 mm CP.  
**B:** Foto de Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) do primeiro arco branquial esquerdo com filamentos branquiais fusionados formando a glândula branquial e filamentos normais não fusionados, com função respiratória. Macho com 29,40 mm CP.  
**C:** Foto (MEV) em detalhe do primeiro arco branquial esquerdo mostrando filamentos branquiais fusionados (FF) e filamentos normais (FN). Macho com 36,90 mm CP. **D:** Foto em vista ventral das duas hemibrânquias do primeiro arco branquial, formando a glândula branquial. Macho de 30,7 mm CP. .... 68

- Fig. 18. Corte sagital do primeiro arco branquial de um macho de *Compsura heterura* (28 mm CP). HE. **A:** Câmaras (CM) existentes entre os filamentos primários (FP) modificados da glândula branquial. A seta indica um local com a perda de lamelas secundárias. Aumento 20x. **B:** Células cilíndricas (CC) entre as lamelas secundárias (LS). Filamento primário (FP). Aumento 100x. .... 69
- Fig. 19. Corte sagital do primeiro arco branquial de um macho de *Compsura heterura* (28 mm CP). HE. As lamelas secundárias (LS), dos filamentos primários (FP) da glândula branquial, são preenchidas por células cilíndricas (CC). Estas células não são encontradas nas extremidades dos distal desses filamentos (seta). Tecido cartilaginoso (TC). Aumento 40x. .... 70
- Fig. 20. Corte sagital do primeiro arco branquial de machos de *Odontostilbe* sp. HE. **A:** Filamentos primários (FP) não modificados e com função respiratória, capilares com hemácias (\*), células de sustentação "pillar cell" (setas). (Macho com 39,23 mm CP. Aum.100x. **B:** Filamentos primários (FP) modificados da glândula branquial, com células cilíndricas (CC) entre as lamelas secundárias (LS). Macho com 35,81 mm CP. Aum.100x..... 71
- Fig.21. Fotos em MEV do primeiro arco branquial esquerdo em machos de *Compsura heterura* demonstrando diferentes fases de desenvolvimento da Glândula branquial. **A:** Ausência da glândula branquial. Macho com 25,87 mm CP; IGS: 0,17; coletado em outubro de 2001; com gônada imatura e sem ganchos na nadadeira anal. **B:** Glândula branquial em desenvolvimento inicial, com tecido epitelial iniciando o recobrimento da região proximal dos filamentos primários (seta). Macho com 23,91 mm CP; IGS:0,53; coletado em julho de 2001; apresentava gônada em maturação inicial e ausência de ganchos na nadadeira anal. **C:** Glândula branquial em desenvolvimento. Macho com 28,33 mm CP; IGS: 0,57; coletado agosto de 2001; apresentava gônada em maturação e ganchos da nadadeira anal em desenvolvimento (pequena elevação). **D:** Glândula branquial desenvolvida, permanecendo uma abertura entre cada par de filamentos primários (setas). Macho com 28,65 mm de CP; IGS: 1,90; coletado em agosto de 2001; apresentava gônada madura e ganchos da nadadeira anal desenvolvidos. .... 72

Fig. 22. Fotos em MEV do primeiro arco branquial esquerdo em machos de *Odontostilbe* sp. demonstrando diferentes fases de desenvolvimento da glândula branquial. **A:** Ausência da glândula branquial. Macho com 26,4 mm CP; IGS: 0,07; coletado em junho de 2001; com gônada imatura e sem ganchos na nadadeira anal. **B:** Glândula branquial em desenvolvimento inicial, com tecido epitelial iniciando o recobrimento da região proximal dos filamentos primários mais ventrais. Macho com 39,23 mm CP; IGS:0,26; coletado em agosto de 2001; apresentava gônada madura e ganchos até o sexto raio ramificado. **C:** Glândula branquial desenvolvida, permanecendo uma abertura entre cada par de filamentos primários (setas). Macho com 37,92 mm de CP; IGS: 1,0; coletado em outubro de 2001; apresentava gônada madura e ganchos até o sexto raio ramificado. .... 73



## LISTA DE TABELAS

- Tabela I: Variação mensal de abril de 2001 a abril de 2002 do índice gonadossomático médio (IGS)  $\pm$  desvio padrão em machos e fêmeas de *Compsura heterura* e variação mensal dos dados abióticos do rio Ceará Mirim, RN. n = número de exemplares amostrados mensalmente. .... 74
- Tabela II: Correlação entre IGS médio mensal de machos e fêmeas de *Compsura heterura* e os dados abióticos (pluviosidade, temperatura e fotoperíodo). .... 75
- Tabela III: Comprimento padrão (CP), índice gonadossomático (IGS), fecundidade absoluta (FA) e fecundidade relativa (FR) de 20 fêmeas de *Compsura heterura*. Para fecundidade absoluta é fornecida a média  $\pm$  desvio padrão. .... 76
- Tabela IV: Variação mensal de abril de 2001 a março de 2002 do índice gonadossomático médio (IGS)  $\pm$  desvio padrão em machos e fêmeas de *Odontostilbe* sp. e variação mensal dos dados abióticos do rio Ibicuí- Mirim, RS. n = número de exemplares amostrados mensalmente. .... 77
- Tabela V: Correlação entre IGS médio mensal de machos e fêmeas de *Odontostilbe* sp. e os dados abióticos (pluviosidade, temperatura e fotoperíodo). .... 78
- Tabela VI: Comprimento padrão (CP), índice gonadossomático (IGS) e fecundidade absoluta (FA) e fecundidade relativa (FR) de 26 fêmeas de *Odontostilbe* sp. amostradas para o estimar as fecundidades. Para a fecundidade absoluta é fornecida a média  $\pm$  desvio padrão..... 79
- Tabela VII: Dados comparativos das fecundidades absolutas e relativas de glandulocaudíneos e queirodontíneos inseminados e queirodontíneos de fecundação externa..... 80

## RESUMO

Este trabalho descreve comparativamente o ciclo reprodutivo de duas espécies de Cheirodontinae: *Compsura heterura*, com inseminação, e *Odontostilbe* sp., de fecundação externa e analisa a sua relação com o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários, como ganchos da nadadeira anal e glândula branquial. Espécimes de *Compsura heterura* foram obtidos no rio Ceará Mirim, Rio Grande do Norte, entre abril de 2001 e abril de 2002 e de *Odontostilbe* sp. no rio Ibicuí Mirim, Rio Grande do Sul, entre abril de 2001 e março de 2002. O período reprodutivo, estabelecido através da variação mensal dos valores médios do índice gonadossomático (IGS) e análise histológica das gônadas, estendeu-se de janeiro de 2001 a abril de 2002 em *C. heterura*. *Odontostilbe* sp. apresentou dois períodos reprodutivos, o primeiro durante setembro e outubro de 2001, e o segundo entre janeiro e fevereiro de 2002. A temperatura, em machos e fêmeas, e pluviosidade, somente nas fêmeas, foram os fatores determinantes no desencadeamento do processo reprodutivo em *C. heterura*, uma vez que os mesmos apresentaram correlações significativas com a variação do IGS. Já em *Odontostilbe* sp., de região subtropical, o fotoperíodo foi o fator que apresentou a maior correlação. A fecundidade absoluta média de *C. heterura* foi de  $434 \pm 112$  ovócitos e a fecundidade relativa média de 0,55 ovócitos por mg de peso total, semelhante a de outros queirodontíneos com fecundação externa. A fecundidade absoluta média de *Odontostilbe* sp. foi mais elevada, variando de  $722 \pm 179$  ovócitos no primeiro período reprodutivo (setembro e outubro) e  $869 \pm 222$  ovócitos no

segundo período (janeiro e fevereiro), e a fecundidade relativa média de 0,71 e 0,89 ovócitos por miligramas de peso em cada um dos períodos. As fases de ovogênese e espermatogênese são discutidas e caracterizadas a fim de auxiliar na classificação microscópica dos estádios de maturação gonadal. Fêmeas de *C. heterura* em maturação apresentaram espermatozóides nos ovários, indicando que a inseminação pode ocorrer antes do período reprodutivo e que fêmeas são receptivas a corte antes da maturação. Machos das duas espécies apresentam gônadas ativas e espermatozóides mesmo fora da época de reprodução, estando permanentemente aptos a fecundação. *Odontostilbe* sp. apresenta espermatozóides com o núcleo arredondado, típico de espécies de fecundação externa, e *C. heterura* possui espermatozóides com núcleo alongado, característico de espécies com inseminação. Caracteres de dimorfismo sexual secundário são mais desenvolvidos na espécie com inseminação (*C. heterura*) do que na espécie de fecundação externa (*Odontostilbe* sp.). Os ganchos em *C. heterura* são longos e finos e mais numerosos nas regiões anterior e posterior da nadadeira anal, enquanto que em *Odontostilbe* sp. os ganchos são pequenos e restritos aos raios anteriores da nadadeira. Em ambas as espécies, machos maduros apresentaram ganchos durante todo o ano, indicando que estas estruturas não são perdidas após o período reprodutivo. As duas espécies apresentam glândula branquial na região mais ventral do primeiro arco branquial e ainda no segundo arco em *C. heterura*. Na glândula branquial os filamentos branquiais apresentam-se fusionados por tecido epitelial estratificado, impedindo a circulação de água e causando a perda da função respiratória e desenvolvendo células cilíndricas

secretoras entre as lamelas secundárias. A glândula branquial de *C. heterura* é formada por até 15 filamentos e de *Odontostilbe* sp. por até 10 filamentos. Machos imaturos e fêmeas não desenvolveram esta estrutura, apenas machos em maturação e maduros. O desenvolvimento dos dois caracteres sexuais secundários examinados (ganchos e glândula branquial) ocorre somente após o início da maturação dos testículos, sendo relacionados a maturação gonadal e não ao tamanho dos indivíduos.

## INTRODUÇÃO

A Família Characidae é composta por uma grande diversidade de espécies que ocupam variados habitats e que desenvolveram diferentes estratégias reprodutivas. Cheirodontinae é uma subfamília de caracídeos abundantes principalmente em águas lênticas e em regiões baixas. Habitam rios das drenagens das Américas Central e do Sul, sendo os únicos Characiformes encontrados em águas do oeste dos Andes no Chile. Costumam ser abundantes em seus ambientes e são bem representados em coleções. A maioria das espécies são pequenas, atingindo no máximo 30-40 mm de comprimento padrão (MALABARBA, 1998).

Os Cheirodontinae são caracterizados pela presença de uma abertura triangular na musculatura que cobre a parte anterior da bexiga natatória em ambos os lados do corpo, sendo denominada de pseudotímpano. Tal redução pode ajudar na transmissão de som do ambiente para a parede da bexiga natatória e desta para o ouvido interno através do aparelho de Weber. Além deste caráter, a forma dos dentes pedunculados e expandidos na sua porção distal, a presença de uma única série de dentes na pré-maxila e a ausência de mancha umeral diagnosticam os membros da subfamília (MALABARBA, 1998).

A subfamília compreende duas tribos, Cheirodontini e Compsurini, além de alguns gêneros considerados *incertae sedis*. A tribo Cheirodontini é reconhecida baseando-se principalmente em caracteres relacionados ao dimorfismo sexual secundário observado nos raios procorrentes ventrais da nadadeira caudal e nos raios da nadadeira anal dos machos. A tribo

Compsurini inclui os queirodontíneos com inseminação (MALABARBA, WEITZMAN & BURNS, in MALABARBA, 1998), sendo caracterizada pela transferência de esperma dos testículos dos machos maduros para os ovários das fêmeas, como descrito em BURNS *et al.* (1997). Os membros da tribo Compsurini apresentam também órgãos especializados na nadadeira caudal dos machos que variam desde a presença de escamas modificadas até a presença de tecidos hipertrofiados aparentemente de função glandular (MALABARBA & WEITZMAN, 1999, 2000). Os demais gêneros de Cheirodontinae, incluindo *Odontostilbe*, não são classificados em nenhuma das duas tribos, apresentando caracteres de dimorfismo sexual pouco evidentes.

A espécie *Compsura heterura* Eigenmann, 1915, é um representante de Compsurini descrito para a bacia do rio São Francisco, e que ocorre na maioria dos rios do nordeste do Brasil. É facilmente diferenciado de outros Cheirodontinae ocorrentes na região pela presença de escamas modificadas formando uma bolsa, possivelmente com função glandular, na base do lobo ventral da nadadeira caudal de machos e fêmeas. Apresentam dimorfismo sexual. Os machos possuem finos ganchos na nadadeira anal inseridos na face póstero-lateral dos raios que se dobram lateralmente sobre os raios no qual estão inseridos. Estes ganchos são mais numerosos na região anterior e posterior, sendo mais reduzidos na região mediana da nadadeira anal. Os ganchos estão presentes também nos raios das nadadeiras pélvicas, e ausentes nas nadadeiras dorsal, caudal e peitorais. Outro caráter que separa machos e fêmeas é a forma da nadadeira anal, com a margem distal reta nos machos e côncava nas fêmeas (Fig. 1a).

Os espécimes de *C. heterura* utilizados neste estudo apresentam hábito herbívoro epifítico, alimentando-se de algas (clorofitas e rodofitas) que estão em cima do matéria vegetal superior. A dieta é esporadicamente complementada por itens de origem animal, como por exemplo insetos e pequenos crustáceos (T.S. Dias, comun. pess.).

*Odontostilbe* sp. ocorre na bacia do rio Uruguai, no estado do rio Grande do Sul, Brasil, Uruguai e Argentina. Esta espécie é muito semelhante e intimamente relacionada a *Odontostilbe pequirá*, mas difere desta e de outros Cheirodontinae na dentição do dentário (MALABARBA, 1998). Indivíduos jovens de *Odontostilbe* sp. apresentam dentes multicuspidados, semelhantes aos de outros Cheirodontinae, enquanto que indivíduos adultos apresentam dentes com as três cúspides medianas mais desenvolvidas do que as demais e formando uma borda cortante contínua nos dentes do dentário. *Odontostilbe* sp. possui o corpo alongado e prateado (Fig. 1b). Machos podem ser diferenciados pela presença de pequenos ganchos nas nadadeiras anal e pélvicas e pelo alongamento do segundo raio não ramificado da nadadeira dorsal e do raio não ramificado da nadadeira pélvica.

Os espécimes de *Odontostilbe* sp. examinados são omnívoros alimentando-se de algas, matéria vegetal superior, insetos autóctones e alóctones e pequenos peixes (T.S. Dias, comun. pess.).

### **Biologia reprodutiva em Cheirodontinae e Characidae**

Estudos sobre biologia reprodutiva envolvendo aspectos sobre período reprodutivo, fecundidade, tipo de desova e tamanho de primeira maturação de

peixes da família Characidae são numerosos, podendo ser citados os de NOMURA *et al.* (1975), AGOSTINHO *et al.* (1984), BARBIERI & BARBIERI (1988), GARUTTI (1989), BRAGA & GENNARI-FILHO (1990, 1991), BAZZOLI & GODINHO (1991), BARBIERI (1992), GODINHO (1994), BARBIERI & MARINS (1995), BARROS & SANTOS (1996), SANTOS *et al.* (1996), TELES & GODINHO (1997), HARTZ *et al.* (1997), FIALHO *et al.* (1998), MAZZONI *et al.* (1999), AZEVEDO *et al.* (2000).

Poucos são os trabalhos sobre reprodução em Cheirodontinae. Entre esses, podemos citar BURNS *et al.* (1997, 1998), que descreveram a morfologia dos espermatozoides e testículos de vinte e uma espécies de Cheirodontinae, sendo oito com inseminação; GELAIN *et al.* (1999), que estudaram aspectos da reprodução de *Serrapinnus calliurus* (Boulenger, 1900); BRAUM *et al.* (2000), que descreveram a biologia reprodutiva de *Cheirodon ibicuihensis* Eigenmann 1915, da lagoa Fortaleza, RS; OLIVEIRA *et al.* (2002), que estimaram o período reprodutivo, o tipo de desova e a fecundidade de *C. ibicuihensis* do arroio Ribeiro, RS; SILVANO *et al.* (manuscrito em preparação) que estudaram o período reprodutivo e fecundidade para *Serrapinnus piaba* (Lütken 1874), do rio Ceará-Mirim, RN.

### **Inseminação**

O período reprodutivo, a fecundidade, o tipo de desova e caracteres sexuais secundários são alguns aspectos que podem apresentar grande variação entre as espécies de peixes em relação a reprodução (AZEVEDO, 2000). A maioria dos peixes de água doce neotropicais apresenta fecundação externa. Um pequeno grupo de espécies, distribuídas em diferentes ordens, apresenta



estratégias alternativas de fecundação, como, por exemplo, a inseminação. Este termo foi utilizado por BURNS *et al.* (1997) para descrever a presença de espermatozóides nos ovários das fêmeas, sem a observação de ovócitos fecundados ou embriões em desenvolvimento. Segundo BURNS & WEITZMAN (ms) as espécies que apresentam esta estratégia reprodutiva teriam a fertilização dos ovócitos ocorrendo internamente logo após a ovulação, ou também poderia haver a possibilidade de ocorrer externamente. Em espécies de sculpin, pertencentes a família Cottidae, os espermatozóides introduzidos no ovário da fêmea ocupam a região micropilar dos ovócitos, mas não os fecundam até que este entre em contato com a água do mar (MUNEHARA *et al.*, 1989). Este tipo de situação foi chamada de "associação gamética interna" por MUNEHARA *et al.* (1989) e por KOYA *et al.* (1993).

Em Characidae, a inseminação é conhecida nas espécies da subfamília Glandulocaudinae, nas espécies da tribo Compsurini, subfamília Cheirodontinae, e em algumas espécies *incertae sedis* da família. As espécies que apresentam inseminação mostram pelo menos algumas especializações associadas a esta estratégia reprodutiva, como espermatozóides com núcleos e peças intermediárias alongadas, testículos com área de armazenamento de espermatozóides, espermatozóides empacotados (espermatozeugmata), ou fecundidade menor do que as espécies de fecundação externa (BURNS & WEITZMAN, ms).

#### **Glândula branquial, morfologia e função**

As brânquias típicas de teleósteos são formadas por quatro arcos branquiais (holobrânquias) em ambos os lados do corpo. Cada arco branquial é

formado por duas fileiras de filamentos primários (ROBERTS, 1981), denominadas hemibrânquias, sendo uma mais externa e a outra mais interna. Estes filamentos primários são sustentados por cartilagem e apresentam finas lamelas secundárias paralelas em ambos os lados. As lamelas secundárias são constituídas por uma camada de células epiteliais de revestimento e vários capilares intercalados por células de sustentação ("pillar cells"). As trocas gasosas ocorrem nessas lamelas à medida que a água flui entre elas em uma direção, e o sangue na direção oposta (SCHMIDT-NIELSEN, 1996). O arco branquial é coberto por um tecido epidérmico típico, mais espesso na origem das lamelas primárias e geralmente com células mucosas (ROBERTS, 1981).

A glândula branquial foi descrita primeiramente por BURNS & WEITZMAN (1996) para *Corynopoma riisei*, uma espécie de glandulocaudíneo. Esta é formada pela união e alteração funcional dos filamentos mais ventrais do primeiro arco branquial. Os filamentos branquiais, que compõem a glândula branquial, estão unidos externamente por tecido epitelial estratificado, mantendo a individualidade internamente. A individualidade entre os filamentos primários forma câmaras entre os mesmos, por onde a secreção é conduzida ao exterior. A glândula branquial foi encontrada em machos maduros e em maturação, o que pode indicar alguma relação com a maturação sexual e possível função reprodutiva.

Embora a glândula branquial tenha sido observada em mais espécies da subfamília Cheirodontinae, e em espécies de outras subfamílias pertencentes à Família Characidae como *Bryconamericus*, *Knodus*, *Hemibrycon* e *Aphyocharax*, as informações até o momento restringem-se aos trabalhos de

BURNS & WEITZMAN (1996) para *Corynopoma riisei*; OLIVEIRA (2000) para o queirodontíneo de fecundação externa, *C. ibicuihensis*, e de BUSHMANN *et al.* (2002) para 12 espécies da subfamília Glandulocaudinae. Existe ainda um trabalho sobre brânquias do queirodontíneo *Macropsobrycon uruguayanae*, descrevendo os efeitos histopatológicos provocados por exposição ao cádmio (RANDI *et al.*, 1996).

## OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivos:

- Estimar e comparar o período reprodutivo, fecundidade absoluta média e fecundidade relativa de duas espécies de Cheirodontinae - *Odontostilbe* sp. e *C. heterura* - que apresentam fecundação externa e inseminação, respectivamente;
- Testar a correlação do índice gonadossomático com os dados abióticos de pluviosidade, temperatura e fotoperíodo;
- Caracterizar histologicamente os diferentes estádios de maturação gonadal de machos e fêmeas;
- Investigar a presença de espermatozóides nos ovários de fêmeas de *C. heterura* em todos os estádios de maturação e em diferentes períodos do ano;
- Descrever, através das imagens de microscopia de varredura, a morfologia dos espermatozóides relacionando-a com a estratégia reprodutiva adotada pelas espécies;
- Investigar e descrever a ocorrência e o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários (glândula branquial e ganchos) relacionando-os com a reprodução;
- Comparar o desenvolvimento da glândula branquial de *Odontostilbe* sp. e *C. heterura*;

## ÁREA DE ESTUDO

### Rio Ceará Mirim

O rio Ceará-Mirim (Fig. 2) constitui-se em uma das principais bacias hidrográficas do Estado do Rio Grande do Norte. Com aproximadamente 2.770 km<sup>2</sup>, nasce no município de Lages nas encostas orientais da Chapada da Serra de Santana e Serra Verde. Inicialmente, seu curso segue para nordeste até o município de João Câmara, mudando em seguida para oeste, desaguando no oceano Atlântico no município de Extremoz, com um percurso aproximadamente de 162 km (NÓBREGA-JÚNIOR, 1986).

O clima da região do Rio Grande do Norte não tem estações do ano estáveis. A região é caracterizada por períodos com intensa precipitação pluviométrica e com prolongado período de estiagem. Assim a pluviosidade ocorre de forma irregular, caracterizada por uma estação chuvosa, cuja concentração está limitada aos meses de fevereiro a agosto, atingindo uma maior precipitação a partir do mês de maio e uma estação seca, que inicia-se, em geral no mês de agosto até janeiro, correspondendo ao verão nas regiões que possuem estações regulares.

Conforme Gurgel (comum. pess.) a ictiofauna mais freqüente do local de coleta está constituída pelas seguintes espécies: *Hoplias malabaricus*, *Cichlasoma bimaculatum*, *Poecilia vivipara*, *Prochilodus* sp., *S. piaba*, *Serrapinnus heterodon*, *Serrapinnus* sp., *C. heterura*, *Characidium bimaculatum*, *Astyanax fasciatus* e *Astyanax bimaculatus*.

O ponto de coleta de *C. heterura* está localizado nas coordenadas geográficas 5° 37' 47" S, 35° 37' 9" O. Nesta região do rio, o fundo é arenoso e

a profundidade máxima é de 1,20m. O rio apresenta no máximo 5 m de largura, a água é transparente com correnteza média e áreas de remanso. Não possui vegetação arbustiva próxima da margem, apenas gramíneas e muita vegetação submersa e flutuante.

### **Rio Ibicuí Mirim**

O rio Ibicuí-Mirim (Fig. 3) faz parte da bacia do rio Uruguai e forma, juntamente com o rio Santa Maria, o rio Ibicuí. Parte de seu curso superior é protegida pela Reserva Biológica do Ibicuí-Mirim, no município de Santa Maria, estabelecida através da lei 30930/82 de 12/11/1982 do Governo do Estado do Rio Grande do Sul (OLIVEIRA, 1991).

As coletas de *Odontostilbe* sp. foram feitas num trecho do rio Ibicuí-Mirim (29° 50' 14" S, 54° 47' 53" O), junto a uma ponte, na divisa das cidades de Cacequi e São Vicente do Sul, RS.

O fundo do rio apresenta areia fina. A vegetação é composta por árvores junto à margem, no lado oposto ao que foram feitas as coletas, onde o leito do rio é mais profundo e a correnteza mais forte. A vegetação mais próxima à margem, no trecho junto à ponte, é constituída por gramíneas, sendo que árvores e arbustos encontram-se mais distantes da margem, na época de seca. Essa relação de distância entre a margem e a vegetação é variável, conforme a época do ano, visto que o rio tem períodos de cheia e de seca (Fig.3). A água é turva e a correnteza é fraca nas áreas próximas à margem e até uma certa distância onde a profundidade não ultrapassa 0,5 m, tornando-se mais forte à medida em que se aproxima da parte mais profunda.

Além de *Odontostilbe* sp. foram coletadas as seguintes espécies: *Bryconamericus iheringii*, *Bryconamericus stramineus*, *Aphyocharax anisitsii*, *Astyanax bimaculatus*, *Astyanax fasciatus*, *Astyanax* sp., *Cheirodon ibicuihensis*, *Serrapinnus calliurus*, *Hyphessobrycon eques*, *Hyphessobrycon luetkenii*, *Macropsobrycon uruguayanae*, *Pseudocorynopoma doriae*, *Diapoma terofali*, *Acestrorhynchus* sp., *Pimelodella* sp., *Moenkhausia dichroua*, *Moenkhausia sanctaefilomenae*, *Steindachnerinna brevipinna*, *Steindachnerinna* sp., *Parodon affinis*, *Characidium* sp., *Apistogramma* sp., *Rineloricaria* sp., *Hisonotus* sp., *Hepactionotus* sp., *Corydoras paleatus*, *Odontesthes* sp., *Synbranchus marmoratus*, *Gymnogeophagus* sp. e *Pachiurus bonariensis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares foram coletados com redes de arrasto do tipo picaré malha com 5mm. *Compsura heterura* foi coletado mensalmente de abril de 2001 a abril de 2002 e *Odontostilbe* sp. de abril de 2001 a março de 2002. Esses foram fixados em campo em formol 10% e, posteriormente transferidos para álcool 70°GL, em laboratório. De cada amostra mensal, foi tomada uma subamostra aleatória, sempre que possível, composta de 20 machos e 20 fêmeas de cada espécie. Desses, foram tomadas as seguintes medidas: comprimento padrão (CP) em mm e o peso total (PT) em gramas. Após, os indivíduos foram dissecados para a retirada e pesagem das gônadas.

Calculou-se o Índice Gonadossomático (IGS) através da fórmula apresentada em SANTOS (1978):

$$\text{IGS} = W_g \times 100 / \text{WT}$$

$W_g$  = peso da gônada, em g

$\text{WT}$  = peso total, em g.

Os valores médios mensais do índice gonadossomático foram calculados através da expressão:

$$\text{IGS} = \Sigma \text{IGS} / n, \text{ onde}$$

IGS = índice gonadossomático de cada exemplar amostrado;

$n$  = número total de exemplares do mês

O período reprodutivo foi estimado através da variação mensal dos valores médios do Índice Gonadossomático (IGS). Com o auxílio do programa INSTAT, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) para identificar a existência ou não de pelo menos uma diferença entre os valores de IGS médios mensais.



Constatada esta diferença, utilizou-se o teste complementar de Tukey para identificar quais as médias que diferem significativamente entre si.

Estimou-se a fecundidade absoluta das espécies através da contagem total dos ovócitos vitelogênicos de fêmeas maduras (13 fêmeas de *Odontostilbe* sp., para cada um dos dois períodos reprodutivos identificados, totalizando 26 indivíduos e 20 fêmeas de *C. heterura*). Os ovários selecionados foram colocados em solução de Gilson modificada de Simpson (1951) para ocorrer a dissociação da massa interna, separando os ovócitos para a contagem. A fecundidade relativa foi estimada a partir do número de ovócitos por miligrama de peso da fêmea, como sugerido por ADEBISI (1987).

Os estádios de maturação gonadal de fêmeas e machos foram definidos com base em caracteres macroscópicos e, para corroborá-los, foram selecionadas algumas gônadas analisadas histologicamente.

Todo o material selecionado para histologia foi desidratado em banhos sucessivos de álcool etílico em ordem crescente de graduações (70°GL, 80°GL, 90°GL, 96°GL, 100°GL I e 100°GL II), durante 45 minutos para cada graduação. A seguir, o material foi diafanizado em dois banhos de xilol por 25 minutos cada. Após o material foi impregnado em parafina ou em resina glicolmetacrilato.

O material impregnado em parafina, passou em três banhos de parafina líquida a 60°C, por 45 minutos em cada banho. Posteriormente incluídos em blocos de parafina.

Algumas gônadas e brânquias foram impregnadas em resina glicolmetacrilato. Após a desidratação, como já descrito acima, o material foi

mergulhado em uma solução constituída por 50% de resina líquida e 50% de álcool etílico 96° GL, por 24 horas. No segundo dia o material ficou mergulhado por 24 horas em solução pura de resina. Após este foi transferido para uma solução de resina pura com solução endurecedora (hardener) e levado à estufa a uma temperatura de 40°C por aproximadamente 48 horas.

O material analisado histologicamente foi cortado em posição sagital com a espessura variando de 3 a 5µm. Para visualização dos tecidos, foram utilizadas as técnicas de coloração de Hematoxilina- Eosina (HE) ou Azul de Toluidina. Algumas lâminas de brânquias foram coradas com ácido periódico de Schiff (PAS) e Azul de Alcian.

Em campo, alguns testículos maduros foram fixados em solução de paraformaldeído mais glutaraldeído modificada de ITO & KARNOVSKY (1968) para a análise da morfologia dos espermatozóides em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Foram selecionadas duas gônadas de machos maduros de cada espécie as quais foram desidratadas em um BAL-TEC Critical Point Dryer, modelo CPD-030, maceradas e espalhadas em cima de stubbs com fita de carbono. Após, os stubbs foram metalizados em um BAL-TEC Sputter Coater modelo SCD-005 com deposição física de ouro. As imagens foram visualizadas e fotografadas no microscópio eletrônico de varredura Jeol modelo JSM-5800. Duas gônadas de fêmeas maduras de *C. heterura* também foram desidratadas, os ovócitos espalhados no stubb e analisados no microscópio eletrônico de varredura. Para o estudo da glândula branquial, foram selecionados machos imaturos, em maturação e maduros, e fêmeas maduras das duas espécies. Desses exemplares amostrados, foi removido o primeiro

arco branquial de ambos os lados do corpo. Foi removido também o segundo arco branquial de alguns espécimes de *C. heterura*. Os arcos braquiais do lado direito foram descalcificados em ácido etilenodiaminotetracetato de tetrasódio (EDTA) a 10% antes de passarem pelo procedimento de rotina histológica. Os arcos branquiais do lado esquerdo foram usados para microscopia eletrônica de varredura.

Foi investigada a presença de ganchos na nadadeira anal de machos amostrados das duas espécies. Os ganchos de *C. heterura* foram classificados em: ausente, em desenvolvimento (ganchos em pequena elevação) e desenvolvido (ganchos finos que se dobram lateralmente sobre os raios no qual estão inseridos) e para *Odontostilbe* sp. apenas registrou-se o número de raios ramificados com ganchos uma vez que nesta espécie não há um padrão de desenvolvimento semelhante a *C. heterura*.

Os dados de pluviosidade foram obtidos através da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte e do Instituto Nacional de Meteorologia – Rio Grande do Sul. O horário do nascer e pôr-do-sol e o cálculo do fotoperíodo foram obtidos através do programa de computador SkyMap, correlacionando as datas às coordenadas dos locais de coleta. Os dados de temperatura da água foram obtidos nos horários das coletas com auxílio de um termômetro. Foi usado o teste não paramétrico de Spearman para testar a correlação entre os valores médios mensais do IGS e os dados de pluviosidade, fotoperíodo e temperatura.

## RESULTADOS

Coletaram-se 1111 espécimes de *C. heterura*, sendo 634 fêmeas e 477 machos. Destes, foram analisados 457 espécimes, incluindo 224 fêmeas e 233 machos. O menor macho analisado media 21,93 mm de comprimento padrão (CP), e o maior apresentava 31,38 mm, enquanto que a menor fêmea media 21,05 mm, e a maior 34,14 mm.

Foram coletados 1437 espécimes de *Odontostilbe* sp. Destes, foram analisados 426 espécimes, sendo 250 fêmeas e 176 machos. O menor macho analisado media 24,75 mm de CP, e o maior 40,59 mm, enquanto que a menor fêmea media 23,2 mm e a maior 44,97 mm.

### **Caracterização dos estádios de maturação gonadal observados.**

Os estádios de maturação gonadal foram definidos com base na análise macroscópica e microscópica das gônadas. Observou-se as seguintes fases de ovogênese:

- Ovogônias - são células arredondadas agrupadas em ninhos e inseridas nas lamelas ovígeras, citoplasma escasso, núcleo grande e basófilo, ocupando quase toda a célula e com um nucléolo central.
- Ovócito de estoque de reserva - inicialmente são encontrados em ninhos e depois separam-se. Surgem mais nucléolos de diferentes tamanhos que migram para a periferia do núcleo (indicando um crescimento da atividade de síntese de RNA). Esta fase é encontrada em todos os estádios de maturação gonadal, porém em maior quantidade em gônadas em maturação (Fig. 4).

- Ovócito pré-vitelogênico - o núcleo cresce não na mesma proporção do citoplasma, que aumenta muito de volume. O contorno do núcleo se torna irregular com nucléolos periféricos. Mostram uma fina camada de células foliculares. Entre as células foliculares e o ovócito observa-se a zona radiata, uma fina camada acelular e eosinófila (Fig. 4).
- Ovócito vitelogênicos – a zona radiata torna-se mais espessa, com estriações, ficando mais evidente. As células foliculares tornam-se mais visíveis (Fig. 5). Ocorre um aumento de grânulos de vitelo e o núcleo contrai-se e migra para o pólo animal em direção à micrópila. A carioteca e o núcleo desorganizam-se e seu conteúdo fica disperso no citoplasma, por isso o núcleo não é visualizado no final nesta fase. A desintegração da membrana nuclear ocorre momentos antes da ovulação. Ocorre então, imediatamente, a primeira etapa da meiose e o ovócito primário transforma-se em um ovócito secundário. A segunda etapa da meiose só ocorrerá se o ovócito secundário for fecundado, transformando-se finalmente em um óvulo.

Outras estruturas também encontradas nos ovários:

- Folículos atrésicos- ovócitos maduros que não foram liberados, sendo desintegrados e absorvidos. Ocorre fusão dos grânulos de vitelo, ruptura da zona radiata, os núcleos emitem prolongamentos no citoplasma e depois desintegram-se. Podem ser encontrados em todas as etapas do desenvolvimento ovocitário.
- Folículo vazio (corpos foliculares)- são formados por cordões de células foliculares que restaram dos folículos esvaziados durante a desova. São observados principalmente em ovários semi-esgotados e esgotados (Fig. 6).

Observou-se as seguintes fases de espermatogênese:

- Espermatogônias- células grandes e arredondadas, com núcleo esférico e citoplasma pouco basófilo (Fig. 7a). Ocorrem em todas os estádios de maturação gonadal.
- Espermatócitos primários- encontram-se em cistos, apresentam forma semelhante as espermatogônias, porém menores. O núcleo é arredondado e a cromatina está condensada. (Fig. 7b).
- Espermatócitos secundários- são menores que os espermatócitos primários e com o aspecto bastante semelhante. Também encontram-se em cistos (Fig. 8).
- Espermátides- são células menores que os espermatócitos secundários e ainda encontradas em cistos. A cromatina apresenta-se muito condensada, corando fortemente de roxo com hematoxilina (Fig. 8).
- Espermatozóides- são as menores células gaméticas encontradas nos testículos. Não são encontradas dentro de cistos, mas sim nos túbulos seminíferos (Fig. 8). *Compsura heterura* apresenta espermatozóides com o núcleo mais alongado medindo aproximadamente 3  $\mu\text{m}$  de comprimento e 1,5  $\mu\text{m}$  de largura (Fig. 9a). E os espermatozóides de *Odontostilbe* sp. possuem o núcleo arredondado, medindo aproximadamente 2  $\mu\text{m}$  de comprimento e 2,2  $\mu\text{m}$  de largura (Fig. 9b).

Através da análise macroscópica e histológica, foram caracterizados os seguintes estádios de maturação para as gônadas das fêmeas: em Maturação, Madura e Semi-Esgotada.

Na análise macroscópica, as fêmeas em maturação apresentam gônadas sólidas e compactas. No início deste estágio, os ovócitos são opacos e pequenos, mas no final os ovócitos vão se tornando mais amarelados e o ovário começa a ocupar um espaço maior na cavidade abdominal. Na análise histológica, inicialmente observam-se poucas ovogônias, vários ovócitos de estoque de reserva e alguns ovócitos pré-vitelogênicos, no final deste estágio observa-se alguns ovócitos vitelogênicos (Fig. 4).

Fêmeas maduras apresentam gônadas grandes, ocupando a maior parte da cavidade abdominal, com vários ovócitos vitelogênicos facilmente visualizados macroscopicamente. Na análise histológica, observa-se o estroma ovariano preenchido por vários ovócitos vitelogênicos, ovócitos pré-vitelogênicos, alguns ovócitos de reserva e ovogônias (Fig. 5).

Fêmeas semi-esgotadas possuem o ovário mais reduzido, semelhante ao estágio em maturação final. Na análise histológica, observa-se a presença de folículos esvaziados, ovócitos vitelogênicos, e ovócitos de reserva. Observa-se a presença de folículos atrésicos (ovócitos vitelogênicos não desovados que são reabsorvidos) (Fig. 6). A presença do deste estágio poderia indicar uma desova parcelada para ambas as espécies.

O estágio esgotado não foi observado para as espécies em estudo. Os ovários passam do estágio semi-esgotado para o estágio em maturação novamente.

As gônadas dos machos foram classificadas em imatura, em maturação, maduras e inativas, de acordo com as análises macroscópica e histológica. As gônadas imaturas são transparentes, muito finas e somente visíveis ao

estereomicroscópio. Na análise histológica, observa-se somente espermatogônias (Fig. 7a).

Machos em maturação apresentam-se gônadas ainda delgadas, de coloração branca e visível sem o auxílio do estereomicroscópio. Inicialmente observa-se várias espermatogônias, espermatócitos primários e secundários e poucas espermatídes e no final desta fase poucos espermatozóides (Fig. 7b).

Em *C. heterura* foram observadas gônadas classificadas como inativas. Estas são semelhantes macroscopicamente as gônadas imaturas ou gônadas em maturação, apresentando tamanho reduzido comparativamente as gônadas maduras. Elas são classificadas histologicamente como inativas por apresentarem somente espermatogônias e espermatozóides, não possuindo as fases intermediárias de espermatogênese. Os indivíduos que apresentaram gônadas inativas, não tinham ganchos e glândula braquial. Isto sugere que estas gônadas iniciaram a maturação e interromperam o processo, de modo que somente os espermatócitos e espermatídes inicialmente produzidos formaram os espermatozóides existentes.

Gônadas maduras apresentam coloração branca mais intensa, com volume maior e mais engrossadas, com bordas onduladas e podem ser reconhecidas claramente sem o auxílio do estereomicroscópio. Histologicamente observa-se todas as fases de espermatogênese: espermatogônias, espermatócitos, espermatídes e muitos espermatozóides nos túbulos seminíferos (Fig. 8). As gônadas *C. heterura* são mais desenvolvidas do que os testículos de *Odontostilbe* sp. Em *Odontostilbe* sp. os testículos alcançam no máximo 2% do peso total do peixe e em *C. heterura* até 6%.



### **Ciclo reprodutivo de *C. heterura*.**

Com base nos valores médios mensais de IGS, estimou-se que período reprodutivo de *C. heterura* no rio Ceará-Mirim inicia em janeiro estendendo-se até abril, quando observa-se os valores mais altos do índice gonadossomático (IGS) tanto para machos quanto para fêmeas (Fig. 10). Neste período, observou-se maior frequência de indivíduos maduros.

As gônadas de machos de *C. heterura* no estágio maduro, estão ativas durante todo o ano, mesmo fora do período reprodutivo (maio a dezembro), apresentando fases intermediárias de espermatogênese (espermátocitos primários e secundários, e espermátides).

Não foram visualizadas em ambos os sexos gônadas esgotadas após o período reprodutivo.

Observou-se a presença de espermatozóides (Figs. 6a, 11) em ovários de *C. heterura* em maturação, maduros e semi-esgotados. As três fêmeas em maturação com espermatozóides no ovário foram coletadas nos meses de agosto, novembro e dezembro (antes do período reprodutivo).

Não foram observados ovócitos fecundados ou embriões em desenvolvimento nos ovários examinados. Os espermatozóides foram encontrados dispersos ou em grupos entre os ovócitos.

O teste não paramétrico de Spearman demonstrou haver correlação entre a pluviosidade e o IGS das fêmeas de *C. heterura* ( $r = 0,6355$ ;  $p = 0,0196$ ). O mesmo não ocorreu entre a pluviosidade e o IGS dos machos ( $r = 0,5172$ ;  $p = 0,0703$ ). O teste de Spearman foi significativo para a correlação entre temperatura e IGS de machos ( $r=0,8831$   $p < 0,0001$ ) e fêmeas ( $r= 0,8501$   $p =$

0,0002). A correlação do fotoperíodo e IGS não foi significativa, tanto para machos ( $r = 0,2531$ ,  $p = 0,4041$ ) quanto para fêmeas ( $r = -0,0137$ ;  $p = 0,9644$ ) (Tabelas I e II).

A fecundidade absoluta de *C. heterura* variou de 218 a 618 ovócitos para fêmeas de 25,88 mm e 32,02 mm de comprimento padrão, respectivamente (Tabela III). A fecundidade absoluta média foi de  $434 \pm 112$  ovócitos e a fecundidade relativa média foi de 0,55 ovócitos por miligramas de peso. A relação entre fecundidade absoluta e comprimento padrão das fêmeas foi de 0,81 (Fig. 12a).

#### **Ciclo reprodutivo de *Odontostilbe* sp.**

Através do gráfico de variação mensal das médias de IGS das fêmeas de *Odontostilbe* sp. observaram-se dois picos, um em setembro de 2001 e o segundo em fevereiro de 2002 (Fig. 13). A análise de variância (ANOVA) demonstrou haver diferença significativa entre os valores mensais de IGS. O teste complementar de Tukey comprovou que existe diferença significativa entre os valores médios de IGS observados entre os dois picos, permitindo o reconhecimento de dois períodos reprodutivos, o primeiro durante setembro e outubro, e o segundo entre janeiro e fevereiro. A variação do comprimento padrão das fêmeas que participaram do primeiro período reprodutivo (35,32 mm - 43,79 mm, média= 39,22 mm) foi maior do que a variação do comprimento padrão das fêmeas que participaram do segundo período de reprodução (31,10 mm- 42,26 mm, média= 35,54 mm) (Fig. 14).

Os testículos de machos de *Odontostilbe* sp. também estão ativos fora do período reprodutivo (maio a dezembro), apresentando fases intermediárias de espermatogênese (espermátócitos primários e secundários e espermátides).

Não foram visualizadas, em ambos os sexos, gônadas esgotadas após o período reprodutivo.

Não foi observada a presença de espermatozóides em ovários.

O teste não paramétrico de Spearman demonstrou não existir correlação entre a pluviosidade e o IGS das fêmeas ( $r = -0,2937$ ;  $p = 0,3541$ ) e machos de *Odontostilbe* sp. ( $r = -0,3566$ ;  $p = 0,2551$ ). A correlação entre temperatura e IGS de machos ( $r = 0,2242$ ;  $p = 0,4837$ ) e fêmeas ( $r = 0,5604$ ;  $p = 0,0581$ ) não foi significativa. A correlação entre o IGS e o fotoperíodo foi significativa tanto para as fêmeas ( $r = 0,7692$ ;  $p = 0,0034$ ) quanto para os machos ( $r = 0,6355$ ;  $p = 0,0196$ ) (Tabelas IV e V).

A fecundidade absoluta de *Odontostilbe* sp. variou de 470 a 1390 ovócitos, considerando fêmeas de 31,50 mm e 39,00 mm de comprimento padrão, respectivamente. A fecundidade absoluta média foi de  $722 \pm 179$  ovócitos no primeiro período reprodutivo (setembro e outubro) e  $869 \pm 222$  ovócitos para o segundo período (janeiro e fevereiro) (Tabela VI). A fecundidade relativa foi de 0,72 e 0,91 ovócitos por miligramas de peso, respectivamente. Não foi observada uma relação significativa entre a fecundidade absoluta e o comprimento padrão das fêmeas (Fig. 12b).

## Ganchos

A distribuição, número de ganchos e número de raios com ganchos varia ao longo da maturação gonadal em *C. heterura* e *Odontostilbe* sp., mas difere entre as duas espécies. Os ganchos em *C. heterura* são mais numerosos e desenvolvidos na região anterior e posterior da nadadeira anal, sendo mais reduzidos nos raios intermediários. Na fase final de desenvolvimento dos ganchos, estes são finos e alongados, inseridos na face póstero-lateral dos raios e curvados lateralmente em direção a face anterior dos mesmos.

As fases de desenvolvimento dos ganchos da nadadeira anal em *C. heterura* foram classificadas em: ganchos ausentes - raios sem ganchos; ganchos em desenvolvimento - os ganchos não encontram-se formados, observando-se uma pequena elevação nos raios; e ganchos desenvolvidos - machos apresentam finos ganchos que se dobram sobre os raios.

Não há correlação entre o tamanho corporal e as fases de desenvolvimento dos ganchos em *C. heterura*. O comprimento padrão dos machos sem ganchos examinados variou de 21,93 mm a 29,71 mm; em machos com ganchos em desenvolvimento de 23,58 mm a 29,45 mm; e em machos com ganchos desenvolvidos de 23,5 mm a 31,38 mm (Fig. 15).

Verificou-se a presença de machos maduros com ganchos desenvolvidos durante todo o período de coleta (Fig. 16).

A maturação dos testículos parece iniciar um pouco antes do desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários, visto que foi encontrado um indivíduo com espermatozóides e espermatogônias nos testículos, sem ganchos e sem glândula branquial.

*Odontostilbe* sp. não apresenta ganchos tão desenvolvidos quanto *C. heterura* e outras espécies de queirodontíneos, assemelhando-se, mesmo nos machos maduros, com ganchos em fases iniciais de desenvolvimento de outros Cheirodontinae. Estes ganchos ocorrem somente nos raios mais anteriores da nadadeira, até o sétimo ou oitavo e mais raramente até o décimo raio ramificado, sendo geralmente pouco desenvolvidos. Os ganchos observados até o quarto ou quinto raios ramificados são ligeiramente maiores, localizados na face póstero-lateral dos raios e curvados em direção à base dos mesmos. Os ganchos observados nos demais raios constituem-se geralmente em pequenas elevações sobre os mesmos. Não foi possível utilizar a mesma classificação de fases de desenvolvimento de ganchos de *C. heterura* para *Odontostilbe* sp., pois nesta espécie o desenvolvimento dos ganchos não segue um padrão definido. Não foi observada, entretanto, nenhuma correlação do desenvolvimento dos ganchos com o tamanho corporal, mas sim com a maturação gonadal e o desenvolvimento da glândula branquial.

### **Glândula Branquial**

A glândula braquial das duas espécies encontra-se na região mais ventral dos primeiros arcos branquiais (Figs. 17a, b, c). Ela está presente em cada hemibrânquia do primeiro arco branquial (Fig. 17d) e ainda no segundo arco branquial de *C. heterura*. As duas séries de filamentos primários da região mais anterior do primeiro arco são revestidas por tecido epitelial estratificado, delimitando a glândula braquial. Internamente, os filamentos primários dividem a glândula branquial em câmaras e não existe ligação entre elas (Fig. 18a). A

fusão externa dos filamentos primários não ocorre na extremidade distal, permanecendo uma abertura para cada câmara. Portanto, a secreção supostamente produzida sai livremente através do espaço existente na extremidade dos filamentos que não estão unidos.

O desenvolvimento da glândula branquial parece iniciar com a multiplicação das células epiteliais que revestem os filamentos primários mais ventrais, estendendo-se então para os filamentos seguintes. Esta divisão celular parece iniciar nas células que revestem a base dos filamentos, próximo ao arco, estendendo-se sobre os filamentos até quase a sua extremidade distal. As lamelas secundárias dos filamentos primários, que formam a glândula branquial, são preenchidas por células cilíndricas. Estas células não são encontradas na extremidade distal destes filamentos (Fig. 19). Em algumas regiões dos filamentos primários pode ocorrer a perda lamelas secundárias, restando somente as células cilíndricas. Observou-se que as lamelas secundárias da glândula branquial são menores e a estrutura é menos visível do que as lamelas de um filamento normal (Fig. 20). As células secretoras cilíndricas encontram-se preenchidas com uma substância de cor violeta quando corada com hematoxilina/eosina ou fracamente rosada quando corada com PAS, o que mostra uma fraca reação positiva a este corante. A glândula branquial mostrou reação negativa para o corante azul de alcian.

Os filamentos branquiais envolvidos na formação da glândula branquial perdem a função respiratória.

Em *C. heterura* a glândula branquial é formada pela união de até 15 filamentos (macho maduro de 29,40 mm de CP, IGS: 2,46 e coletado em

agosto de 2001) e por até 10 filamentos em *Odontostilbe* sp. (macho maduro de 37 mm de CP, IGS: 0,88 e coletado em setembro de 2001). A glândula branquial foi encontrada somente nos machos das duas espécies, estando ausente em fêmeas e em machos imaturos (somente apresentam espermatogônias nos testículos).

Uma vez desenvolvida, a estrutura da glândula branquial permanece após o período reprodutivo.

Observou-se uma relação entre maturação gonadal e as fases de desenvolvimento dos ganchos e da glândula branquial em *C. heterura*, independentemente do tamanho corporal. Indivíduos sem ganchos apresentavam somente espermatogônias nos testículos e a glândula branquial está ausente (Fig. 21a). Machos com ganchos em desenvolvimento apresentam gônadas em maturação e glândulas branquiais em desenvolvimento (Figs. 21b, c). Machos com ganchos desenvolvidos apresentam gônadas maduras e glândulas branquiais desenvolvidas (Fig. 21d). Em *Odontostilbe* sp. observa-se uma relação semelhante, com a ausência de glândula branquial e ganchos em indivíduos imaturos (Fig. 22a), e presença de ganchos e glândula branquial em indivíduos maduros (Fig. 22b, c).

## DISCUSSÃO

### Ovários e testículos

A nomenclatura diversificada empregada na literatura para a classificação das fases de desenvolvimento ovocitário e demais componentes do folículo ovocitário pode dificultar a compreensão dos estudos realizados. O primeiro exemplo desta diversidade de denominações, refere-se a membrana extracelular que se forma entre o ovócito e as células foliculares, chamada de zona radiata (BARBIERI & BARBIERI, 1985; SILVEIRA *et al.*, 1995; COWARD & BROMAGE, 1998; CHINI *et al.*, 2001; GARCIA *et al.*, 2001), zona pelúcida (Davis, 1977; Neves *et al.*, 1996), membrana vitelina (VAZZOLER, 1996), ou envelope vitelínico (SELMAN & WALLACE, 1986). Preferiu-se utilizar aqui o termo zona radiata por caracterizar melhor este tipo de estrutura, devido as estriações observadas.

As células germinativas das fêmeas passam por profundas modificações durante seu desenvolvimento, podendo-se caracterizar fases ao longo desse processo (VAZZOLER, 1996). No entanto, existe diferença no número de etapas do desenvolvimento ovocitário utilizado pelos autores. VAZZOLER (1996) utiliza duas denominações: a primeira, utilizada por ela e por outros autores para peixes marinhos, compreende seis fases de desenvolvimento (I- células germinativas jovens, II- ovócito de estoque de reserva, III- ovócito com vitelogênese lipídica, IV- ovócito com vitelogênese lipídica e protéica, V- ovócito com vitelogênese completa, VI- ovócito em hialinização); a segunda é dividida em cinco fases (cromatina-nuclear, perinuclear, formação da vesícula vitelínica, vitelonênese e maduro). Davis (1977) utiliza nove fases de



desenvolvimento ovocitário (cromatina nuclear, perinuclear inicial, perinuclear final, vesícula vitelínica, vitelonênese primária, vitelonênese secundária, vitelonênese terciária e fase madura) para *Tandanus tandanus*. Este autor também divide os folículos atrésicos em 4 estágios (estágios a, b, c, d de atresia).

Optou-se por utilizar o menor número de fases de desenvolvimento ovocitário para não ocorrer erros e para facilitar a identificação microscópica dos estádios de maturação. Muitas vezes não se realiza tal identificação em trabalhos de biologia reprodutiva pelo fato dela ser demorada, e porque muitas etapas de desenvolvimento ovocitário tornam difícil a classificação.

Com exceção das ovogônias, todos os demais ovócitos são ovócitos primários, por isso não é aconselhável utilizar o nome de ovócito primário para apenas uma etapa do desenvolvimento. Dificilmente podemos identificar um ovócito secundário, pois a primeira etapa da meiose ocorre momentos antes da ovulação, transformando o ovócito primário em um ovócito secundário. Por isso optou-se por utilizar a seguinte classificação: ovogônias, ovócitos de reserva, ovócito pré-vitelogênico e ovócito vitelogênico.

Este problema não ocorre com a descrição das fases de desenvolvimento espermatogênico, pois as etapas são marcadas de acordo com o processo de divisão celular. As espermatogônias são as maiores células que sofrem consecutivas divisões mitóticas, transformando-se em espermatócitos primários, estes dão origem aos espermatócitos secundários através da primeira etapa da meiose, os espermatócitos secundários sofrem a segunda etapa da meiose transformando-se em espermatídes, que por vez não realiza

mais divisões celulares, apenas espermiogênese (reorganização do núcleo e do citoplasma e formação do flagelo), finalmente transformando-se num espermatozóide.

A classificação microscópica dos estádios de maturação gonadal, apesar de ser mais demorada e dispendiosa, é a técnica mais precisa, pois considera as fases específicas pelas quais passam os ovócitos durante a sua maturação (Dias *et al.*, 1998). A análise macroscópica tem a vantagem de fornecer resultados imediatos. Contudo, leva em consideração características que são alteradas com facilidade, em função do processo de conservação das gônadas ou dos exemplares a serem processados. Além disso, é muito dependente da subjetividade do pesquisador em relação ao conhecimento das características em questão. Como consequência, podem ocorrer erros na avaliação e na classificação das gônadas em relação aos seus estádios de maturidade (DIAS *et al.*, 1998). Para evitar erros na classificação macroscópica, estes autores sugerem o uso de poucos estádios de maturação gonadal; análise simultânea de outros indicadores de maturação, como IGS ou RGS, determinação do comprimento médio da primeira maturação gonadal; levantamento de informações sobre biologia das espécies congênicas. Neste estudo procurou-se avaliar não somente dados macroscópicos. Foram levados em consideração aspectos histológicos e da morfologia através de microscopia, para garantir uma determinação correta dos estádios de maturação.

O estágio esgotado caracteriza-se por ovário com peso e volume bem reduzido, vários folículos esvaziados, alguns ovócitos em reabsorção, ovócitos imaturos e alguns ovócitos em maturação (estoque de reserva). Este estágio,

quando classificado macroscopicamente, facilmente é confundido com o estágio em maturação mais inicial. O estágio esgotado não foi encontrado para *C. heterura* e *Odontostilbe* sp. AZEVEDO (2000) também comenta a ausência deste estágio para *Mimagoniates microlepis* e *Mimagoniates rheocharis*. Após o período reprodutivo, estas espécies podem iniciar novamente a maturação dos ovócitos.

### **Fecundidade**

A fecundidade depende do volume da cavidade celomática disponível para alojar os ovócitos maduros e do tamanho (volume) dos ovócitos (VAZZOLER, 1996). A fecundidade e o diâmetro dos ovócitos maduros são muito lábeis, variando entre os períodos reprodutivos e entre indivíduos de mesmo tamanho em um mesmo período reprodutivo (VAZZOLER, 1996). Segundo NIKOLSKI (1969) a variação na fecundidade de espécies que ocupam diferentes locais, pode estar relacionada com o suprimento de alimento, tamanho da primeira maturação gonadal, longevidade, densidade populacional, temperatura e latitude. Existem outros fatores que podem interferir na fecundidade, como por exemplo, o tipo de fecundação e o cuidado com a prole.

Com base na observação de que as espécies inseminadas da subfamília Glandulocaudinae possuem fecundidade relativa mais baixa do que outros caracídeos com fecundação externa, Azevedo (2000), Azevedo et al. (2000) e Burns & Weitzman (ms) sugerem que a inseminação proporcionaria maior probabilidade de fecundação, diminuindo o gasto energético para a produção

de ovócitos. Esta hipótese parece ser válida somente para as espécies de Glandulocaudinae, e aparentemente não está associada diretamente a presença de inseminação, uma vez que a espécie inseminada *C. heterura* apresenta fecundidade relativa mais elevada do que as espécies de Glandulocaudinae (Tabela VII) e semelhante a algumas espécies de Cheirodontinae com fecundação externa.

VAZZOLER (1996) comenta que a fecundidade também varia com o tamanho da fêmea, aumentando com o crescimento, e está mais relacionada ao comprimento do que à idade do indivíduo. Isso não foi observado para *Odontostilbe* sp., pois a relação entre o comprimento padrão e a fecundidade absoluta das fêmeas de *Odontostilbe* foi baixa ( $r = 0,45$ ). Fêmeas menores apresentaram fecundidade relativa muitas vezes mais alta do que fêmeas maiores. A fecundidade média absoluta e relativa foi maior no segundo período reprodutivo, quando predominaram fêmeas menores. Segundo Fialho (comum. pess.), fêmeas que participam pela primeira vez da reprodução tendem a investir mais na produção de ovócitos, o que pode explicar a fecundidade mais alta no segundo período reprodutivo.

As fêmeas maiores de *Odontostilbe* sp., provavelmente as mais velhas, participaram do primeiro período reprodutivo que ocorreu de setembro a outubro de 2001. No segundo período reprodutivo, que ocorreu de janeiro a fevereiro, participaram as fêmeas grandes e fêmeas menores em maior número. Os indivíduos nascidos no primeiro período reprodutivo podem ter apresentado um desenvolvimento rápido e participado do segundo período reprodutivo, uma vez que no segundo período reprodutivo foram observadas

fêmeas de tamanho reduzido e IGS elevado (Ex.: 31,66 mm, IGS= 9,28, coletada em fevereiro).

### **Inseminação e volume dos testículos**

Os testículos de machos maduros de *C. heterura* são bem mais desenvolvidos do que os testículos de *Odontostilbe* sp., alcançando até 6% do peso total do peixe. Em *Odontostilbe* sp. os testículos alcançam no máximo 2% do peso total. Em *C. ibicuihensis* (Oliveira *et al.*, 2002) os testículos alcançaram até 1,8 %, em *S. calliurus* (GELAIN *et al.*, 1999) até aproximadamente 2%, em *S. heterodon* até 2,8 % (P. M. Zamberlan comum. pess.) e em *S. piaba* (Silvano *et al.*, manuscrito em preparação) até 1,69%. Ao contrário das espécies com fertilização externa, machos de *C. heterura* aparentemente apresentam um investimento maior no desenvolvimento gonadal, que pode estar associado a necessidade de estarem sempre disponíveis à inseminação mesmo fora do momento da desova. Os machos com maior produção de espermatozoides, e por um maior período de tempo, seriam mais eficientes na inseminação de um maior número de fêmeas e na produção de descendentes. Em espécies inseminadas da subfamília Glandulocaudinae, também observa-se um maior desenvolvimento dos testículos. Em machos de *Diapoma speculiferum* os testículos alcançam até 3% do peso total do corpo (Azevedo *et al.*, 2000), em *Mimagoniates rheocharis* até 4,5% e *Mimagoniates microlepis* até 7% do peso total (Azevedo, 2000).

### Presença de espermatozóides em gônadas em maturação de *C. heterura*

Encontrou-se espermatozóides no ovários de duas fêmeas de *C. heterura* que se encontravam no estágio em maturação as quais foram coletadas em novembro e dezembro, ou seja, 1 a 2 meses antes do período reprodutivo. Aparentemente, fêmeas de *C. heterura* são receptivas à corte e inseminação antes mesmo de estarem maduras e, portanto, podem ser inseminadas fora do período reprodutivo, uma vez que os machos adultos estão ativos o ano inteiro. Espermatozóides estavam presentes também em uma fêmea em maturação (CP: 27,19 mm, IGS: 4,3) coletada em agosto de 2001. Os ovários desta fêmea, entretanto, continham vários ovócitos de reserva, alguns ovócitos vitelogênicos e folículos esvaziados, o que indica uma gônada que já passou por um período de desova e está maturando novamente para o próximo ciclo reprodutivo. No caso específico desta fêmea, podemos admitir duas hipóteses: a presença de inseminação fora do período reprodutivo ou a existência de espermatozóides remanescentes do período reprodutivo anterior.

AZEVEDO *et al.* (2000) observaram fêmeas de *D. speculiferum* em maturação com espermatozóides nos ovários. BURNS & WEITZMAN (ms) também encontraram espermatozóides nos ovários de fêmeas de *Gephyrocharax valenciae* e *Brittanichthys axelrodi* em maturação. Para estes autores, este fato sugere que a inseminação pode ocorrer realmente antes dos ovócitos estarem maduros. O fato de observarmos esta estratégia de inseminação antes da maturação em espécies não filogeneticamente relacionadas (*C. heterura* em Cheirodontinae; *D. speculiferum* e *G. valenciae* em Glandulocaudinae; e no

caracideo incertae sedis *B. axelrodi*), indica a aquisição (ou evolução) independente desta estratégia nestes grupos.

Provavelmente os espermatozoides de espécies inseminadas possuem um longo tempo de duração dentro do ovário de fêmeas ainda em maturação. Segundo KUTAYAGIL (1959), fêmeas de *Corynopoma riisei* são capazes de depositar ovos fertilizados depois de 7 a 10 meses de ocorrer o acasalamento. Qual a vantagem da relação de corte ocorrer antes do período reprodutivo? Para Burns *et al.* (1997), a inseminação permite separação espacial e temporal entre machos e fêmeas e também permite a demora da oviposição até que as condições ambientais estejam favoráveis para as larvas.

### **Morfologia externa dos espermatozoides**

Assim como os demais peixes de fecundação externa, *Odontostilbe* sp. possui espermatozoides com o núcleo arredondado, sendo denominado de aquasperma. *Compsura heterura* apresenta espermatozoides com o núcleo mais alongado. BURNS *et al.* (1997) investigaram a presença de espermatozoides em ovários de 21 espécies de queirodontíneos. Entre as espécies examinadas, oito eram inseminadas. Todas as espécies de fecundação externa e uma espécie com inseminação (*Kolpotocheirodon theloura*), apresentaram espermatozoides com núcleo arredondado. Os demais queirodontíneos inseminados tinham núcleos levemente alongados. BURNS & WEITZMAN (ms) analisando a morfologia dos espermatozoides de outras 28 espécies não incluídas em BURNS *et al.* (1995 e 1997), observaram espermatozoides com núcleos arredondados apenas em: *Planaltina myersi*,

duas espécies não descritas de *Planaltina*, *Knodus* e *Attonitus irisae*. Geralmente espécies inseminadas ou de fecundação interna possuem espermatozóides com núcleos alongados (Jamieson, 1991; Burns *et al.* 1997, 1998), pois este formato facilitaria o seu deslocamento dentro do ovário.

### **Presença de ganchos**

Os ganchos são prolongamentos ósseos que surgem nos raios das nadadeiras dos machos de várias espécies da Família Characidae. Apresentam variação na forma, número de ganchos por segmento do raio, localização na nadadeira e podem estar presentes nas nadadeiras anal e pélvicas, e mais raramente nas nadadeiras caudal, dorsal ou peitorais. Por apresentar grande variação são utilizados como um caracter na identificação de espécies em Characidae, bem como na definição de alguns táxons em Cheirodontinae (Malabarba, 1998).

Wiley & Collette (1970) sugerem que os ganchos servem como órgãos de contato durante a corte. Malabarba (comum. pessoal) propõe que estas estruturas possam servir de sustentação para as abas de pele presentes nas nadadeiras, ajudando na dispersão dos espermatozóides ou de feromônios, de acordo com a sua localização.

Von Ihering & Azevedo (1936) não observaram ganchos após o período reprodutivo em *A. bimaculatus*. O mesmo foi constatado por Garutti (1990), que com base em observações do "grau de aspereza" da nadadeira anal em *A. bimaculatus* relacionadas ao Índice Gonadossomático (IGS), propõe que os ganchos das nadadeiras em caracídeos desenvolvem-se somente na fase



reprodutiva, sendo posteriormente perdidos. A hipótese de Garutti foi formulada com base na baixa frequência de exemplares machos com ganchos bem desenvolvidos na época em que o IGS é baixo. A frequência de exemplares com ganchos desenvolvidos fora do período reprodutivo também foi baixa para *C. heterura* e *Odontostilbe* sp., mas pode ser explicada pelo maior número na amostra de indivíduos jovens (em maturação), nascidos no período reprodutivo anterior, e que ainda não desenvolveram os ganchos. Diferentemente de von Ihering & Azevedo (1936) e de Garutti (1990), Andrade *et al.* (1984) observaram ganchos em machos de *A. bimaculatus* durante 18 meses de experimento, sugerindo que esta característica é constante em machos adultos nesta espécie. Silva (1996) também encontrou ganchos em machos após o período reprodutivo.

Azevedo (2000), investigando o desenvolvimento de ganchos em *M. microlepis* e *M. rheocharis*, observou que o desenvolvimento dos ganchos está relacionado com o tamanho do peixe, sendo observados machos com ganchos o ano inteiro. Oliveira (2000) estudando o queirodontíneo *C. ibicuhiensis* verificou que os ganchos estão presentes em todos os machos maduros, que permanecem após o período reprodutivo e que existe uma correlação positiva entre o comprimento padrão e o número de raios ramificados com ganchos.

O gráfico da figura 15 demonstra que não existe relação entre o comprimento padrão e o grau de desenvolvimento dos ganchos de *C. heterura* e *Odontostilbe* sp. Neste observa-se uma sobreposição de tamanho corporal de indivíduos com ganchos nas diferentes fases de desenvolvimento. Observa-se machos de maior tamanho (29,7 mm CP) sem ganchos, IGS= 0,54 e

gônadas imaturas. Encontrou-se também, machos menor tamanho com ganchos desenvolvidos, apresentando 25,3 mm de CP, IGS= 3,54 e gônadas maduras. Os ganchos desenvolvidos da nadadeira anal estão presentes em todos os machos maduros de *C. heterura* e *Odontostilbe* sp., independente da época do ano, mostrando que esta estrutura permanece mesmo após o período reprodutivo.

### Glândula Branquial

A glândula branquial foi encontrada por Bushmann *et al.* (2002) em 12 das 19 espécies de glandulocaudíneos examinados, sendo que não foi encontrada em fêmeas maduras e machos imaturos. Bushmann *et al.* (2002) observaram também que *Corynopoma riisei*, *Pterobrycon myrmae*, *Pterobrycon landoni*, *Xenobrycon macropus* e *Tytocharax tambopatensis* não preservam as lamelas secundárias nos filamentos que compõem a glândula branquial e os filamentos primários mostram-se modificados. *Compsura heterura* e *Odontostilbe* sp. também apresentam ausência de lamelas secundárias em alguns pontos da glândula branquial. Além, dos filamentos estarem unidos e cobertos por um epitélio estratificado, ocorre a perda das lamelas secundárias, impedindo que estas espécies utilizem esta porção da brânquia para as trocas gasosas.

Analisando as imagens de microscopia eletrônica de varredura, verificamos que a glândula branquial de *C. heterura* e *Odontostilbe* sp. parece menos túrgida e desenvolvida que em *Corynopoma riisei* analisada por Burns & Weitzman (1996).

Os cortes histológicos de branquias quando corados com azul de alcian apresentaram reação negativa, indicando ausência de mucoproteínas na região da glândula branquial, mas quando corados com ácido periódico de Schiff, mostraram reação fracamente positiva, indicando a presença de glicoproteínas. É necessário o uso de outros corantes para conhecer composição da substância que está presente nas células cilíndricas da glândula branquial.

A função da glândula braquial ainda não está bem definida, mas por iniciar o seu desenvolvimento em machos em maturação gonadal e ser bem desenvolvida em machos maduros, esta pode estar relacionada a reprodução. A secreção produzida por esta glândula pode ser utilizada para atrair as fêmeas durante o período reprodutivo e/ou na competição entre machos (BUSHMANN *et al.*, 2002).

### **Período reprodutivo e dados abióticos**

Fatores abióticos como fotoperíodo, temperatura e níveis pluviométricos, bem como os bióticos, como disponibilidade de alimento, costumam desencadear os eventos reprodutivos da maioria das espécies, podendo interferir de modo diferente em cada espécie de peixe, dependendo da sua estratégia reprodutiva, características fisiológicas e história genealógica (AZEVEDO,2000). Para os peixes tropicais, a disponibilidade de alimento tem um papel fundamental na determinação do ritmo reprodutivo, enquanto o fotoperíodo e a temperatura não desempenham um papel determinante como fatores limitantes da reprodução (VAZZOLER & MENEZES, 1992). Nestes ambientes, a disponibilidade de alimentos varia fundamentalmente em função

das alterações do nível fluviométrico. Assim, o início das cheias aumenta rapidamente o nível de nutrientes, levando à elevação de produtividade e, por conseqüência, ao incremento na disponibilidade de alimento (VAZZOLER & MENEZES, 1992). Desse modo, o período reprodutivo das espécies de peixes de baixa latitude, como no nordeste do Brasil, geralmente está associado a elevação da pluviosidade, juntamente com a temperatura, o que proporciona um aumento de nutrientes para as larvas. Este fato foi observado através do teste de correlação entre o IGS das fêmeas de *C. heterura* e a pluviosidade e também para temperatura e IGS de machos e fêmeas.

Por outro lado, o período reprodutivo das espécies de peixes do sul do Brasil, onde não ocorrem períodos claramente demarcados de maior e menor pluviosidade, está geralmente associado ao fotoperíodo, como demonstrado para machos e fêmeas de *Odontostilbe* sp. A diferença no comprimento do dia mais longo e do dia mais curto na localidade de coleta de *C. heterura*, é de apenas 39 minutos, mas de 232 minutos na localidade de coleta de *Odontostilbe* sp. A associação do período reprodutivo com o fotoperíodo foi observada igualmente por Azevedo *et al.* (2000) para a espécie *D. speculiferum* estudada em latitude relativamente elevada (30° 22' 62" S).

## CONCLUSÃO

- O período reprodutivo de *C. heterura* estendeu-se de janeiro de 2001 a abril de 2002. A temperatura e a pluviosidade foram os fatores determinantes no desencadeamento do processo reprodutivo.
- *Odontostilbe* sp. apresentou dois períodos reprodutivos, o primeiro durante setembro e outubro de 2001, e o segundo entre janeiro e fevereiro de 2002. O fotoperíodo foi o fator determinante no desencadeamento do processo reprodutivo desta espécie.
- A fecundidade absoluta média e fecundidade relativa média de *C. heterura* foram semelhantes a de outros queirodontíneos com fecundação externa, porém menor que *Odontostilbe* sp. Não se observa em *C. heterura* a redução na fecundidade relativa descrita para outros caracídeos (glandulocaudinae) com inseminação.
- Fêmeas de *C. heterura* são receptivas a corte antes da maturação gonadal, pois apresentam espermatozóides nos ovários em maturação.
- As gônadas dos machos maduros das duas espécies continuam ativas fora da época de reprodução, porém mais reduzidas. Os machos estão permanentemente aptos a reprodução.
- *Compsura heterura* possui espermatozóides com núcleo alongado, característico de espécies com inseminação. *Odontostilbe* sp. apresenta espermatozóides com o núcleo arredondado, típico de espécies de fecundação externa, denominado de aquasperma.

- *Compsura heterura* apresenta caracteres de dimorfismo sexual secundário mais desenvolvidos do que *Odontostilbe* sp.
- Os ganchos estão presentes durante todo o ano em ambas as espécies, indicando que estas estruturas não são perdidas após o período reprodutivo.
- A glândula branquial está localizada na região mais ventral do primeiro arco branquial das duas espécies e ainda no segundo arco em *C. heterura*.
- Na região da glândula branquial os filamentos branquiais apresentam-se fusionados por tecido epitelial impedindo a circulação de água e causando a perda da função respiratória.
- As células cilíndricas secretoras estão presentes entre as lamelas secundárias somente na região onde os filamentos estão fusionados.
- A glândula branquial em *C. heterura* é formada por um número maior de filamentos quando comparado com *Odontostilbe* sp.
- A glândula branquial é encontrada apenas machos em maturação e maduros, estando ausente nos machos imaturos e fêmeas.
- A maturação gonadal inicia antes do desenvolvimento dos dois caracteres sexuais secundários examinados (ganchos e glândula branquial). O surgimento destes caracteres está associado a maturação gonadal e não está relacionado ao tamanho dos indivíduos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEBISI, A.A. 1987. The relationships between fecundities, gonadosomatic indices and egg sizes of some fishes of Ogun River, Nigéria. **Arch. Hydrobiol.** 111:151-156.
- AGOSTINHO, C.A.; S.L., MOLINARI & A.A. AGOSTINHO. 1984. Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas do lambari, *Astyanax bimaculatus* (Osteichthyes, Characidae) do rio Ivaí, estado do Paraná. **Rev. Brasil. Biol.** 44 (1):31-36.
- ANDRADE, D.R.; E. MENIN & S.P. RIBEIRO. 1984. Periodicidade da característica sexual secundária em *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) Pisces, Characidae. **Revista Seiva** 44 (93): 9-12.
- AZEVEDO, M.A. 2000. **Biologia reprodutiva de dois glandulocaudíneos com inseminação, *Mimagoniates microlepis* e *Mimagoniates rheocharis* (Teleostei: Characidae), e características de seus ambientes.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 84p.
- AZEVEDO, M.A.; L.R. MALABARBA & C.B. FIALHO. 2000. Reproductive biology of the inseminated Glandulocaudine *Diapoma speculiferum* Cope, (Actinopterygii: Characidae). **Copeia** 2000 (4): 983-989.
- BARBIERI C.M. & G. BARBIERI. 1985. Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de ovários. Variação sazonal (Teleostei, Gymnotidae). **Rev. Brasil. Biol.** 45 (1/2): 3-12.

- BARBIERI, G. 1992/1993. Biology of the *Astyanax scabripinnis paranae* (Characiformes, Characidae) of Fazzari Stream, São Carlos, São Paulo State: II. Quantitative aspects of the reproduction. **Rev. Brasil. Biol.** **52**(4): 589-596.
- BARBIERI, G. & M.C. BARBIERI. 1988. Curva de maturação, tamanho de primeira maturação e fecundação de *Astyanax bimaculatus* e *Astyanax fasciatus*, da represa do Lobo, estado de São Paulo (Osteichthyes, Characidae). **Ceres** **35** (197): 64-77.
- BARBIERI, G. & M.D.A. MARINS. 1995. A study of dynamics of the females of *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) in the Lobo reservoir, São Paulo state (Osteichthyes, Characidae) **Arq. Biol. Tecnol. (Curitiba)** **38** (4): 1191-1197.
- BARROS, L.N.V. & G.B. SANTOS. 1996. Fecundity and spawning aspects of dog fish *Acestrorhynchus britskii* Menezes, 1996 (Teleostei, Characidae). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** **48** (suppl. 1): 93-99.
- BAZZOLI, N. & H.P. GODINHO. 1991. Reproductive biology of the *Acestrorhynchus lacustris* (Reinhardt, 1874) (Pisces: Characidae) from Três Marias Reservoir, Brazil. **Zool. Anz.** **226** (5-6): 285-297.
- BRAGA, F.M.D.S. & O. GENNARI-FILHO. 1990. Contribution to the knowledge of the reproduction of *Moenkhausia intermedia* (Characidae, Tetragonopterinae) in the Barra Bonita dam, Piracicaba river (São Paulo, Brazil). **Naturalia** **15**: 171-188.
- BRAGA, F.M.D.S. & O. GENNARI-FILHO. 1991. Studies on fecundity, spawning, and natural mortality of *Moenkhausia intermedia* (Characidae,



- Tetragonopterinae) at Barra Bonita dam, Piracicaba river, São Paulo. **Naturalia** 16: 55-68.
- BRAUM, A.S.; D. dos S. LEWIS & N. F. FONTOURA. 2000. Biologia reprodutiva de *Cheirodon ibicuihensis* (Eigenmann, 1915) na lagoa Fortaleza, Cidreira, Rio Grande do Sul, Brasil (Teleostei: Characidae: Cheirodontinae). **Comum. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS, sér. Zool.** 13 (2): 159-166.
- BURNS, J.R. & S.H. WEITZMAN. 1996. Novel gill-derived gland in the male swordtail characin, *Corynopoma riisei* (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae). **Copeia** 1996 (3): 627-633.
- BURNS, J.R.; S.H. WEITZMAN, H.J. GRIER & N.A. MENEZES. 1995. Internal fertilization, testis and sperm morphology in glandulocaudine fishes (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae) **Ibid.** 224:131-145.
- BURNS, J.R.; S.H. WEITZMAN, K. LANGE & L.R. MALABARBA. 1998. Sperm ultrastructure in characid fishes, p. 235-244. In: L. R. Malabarba, R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Edipucrs, 603p.
- BURNS, J.R.; S.H. WEITZMAN, & L.R. MALABARBA. 1997. Insemination in eight species of Cheirodontine fishes (Teleostei: Characidae: Cheirodontinae). **Copeia** 1997(2): 433-438.
- BUSHMANN, P.J.; J.R. BURNS & S.H. WEITZMANN. 2002. Gill-derived glands in glandulocaudine fishes (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae). **J. Morphol.** 253: 187-195.
- CHINI, H.A.S.; J.A.D. GARCIA; E.L. MAISTRO & I. GUAGIO-GRACIOTTO. 2001. Dynamics and cytochemistry of oogenesis in *Leporinus striatus* Kner

- (Teleostei, Characiformes, Anostomidae) from the Rio Sapucaí, Minas Gerais State, Brazil. **Revta. bras. Zool.** **18** (4): 1065-1072.
- COWARD, K. & N.R. BROMAGE. 1998. Histological classification of oocyte growth and the dynamics of ovarian recrudescence in *Tilapia zillii*. **J Fish Biol.** **53**: 285-302.
- DAVIS, T.L.O. 1977. Reproductive biology of the freshwater catfish, *Tandanus tandanus* Mitchell, in the Gwydir river, Australia. I. Structure of the gonads. **Aust. J. Mar. Freshwater Res.** **28**: 139-158.
- DIAS, J.F.; E. PERES-RIOS; P.T.C. CHAVES & C.L.D.B. ROSSI-WONGTSCHOWSKI. 1998. Análise macroscópica dos ovários de Teleósteos: Problemas de classificação e recomendações de procedimentos. **Rev. Brasil. Biol.** **58** (1): 55-69.
- FIALHO, C.B.; L.C. SCHINO & J.R. VERANI. 1998. Reproductive biology of *Oligosarcus jenynsii* (Gunther) (Characiformes, Characidae) from Custódias lagoon, Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brazil. **Revta. bras. Zool.** **15** (3): 775-782.
- GARCIA J.A.D.; CHINI H.A.S.; E.L. MAISTRO & I. GUAGIO-GRACIOTTO. 2001. Dynamics and cytochemistry of oogenesis in *Astyanax fasciatus* (Cuvier) (Teleostei, Characiformes, Characidae) from the Rio Sapucaí, Minas Gerais State, Brazil. **Revta. bras. Zool.** **18** (4): 1057-1064.
- GARUTTI, V. 1989. Contribuição ao conhecimento reprodutivo de *Astyanax bimaculatus* (Ostariophsi, Characidae) em cursos de água da bacia do rio Paraná. **Rev. Brasil. Biol.** **49** (2): 489-495.

- GARUTTI, V. 1990. Caráter Sexual Secundário em *Astyanax bimaculatus* (Ostariophysi, Characidae) Relacionado às nadadeiras anal e pélvicas. **Naturalia** 15: 109 -119.
- GELAIN, D.; C.B. FIALHO & L.R. MALABARBA. 1999. Biologia reprodutiva de *Serrapinnus calliurus* (Boulenger, 1900) (Characidae, Cheirodontinae) do arroio Ribeiro, Barra do Ribeiro, RS, Brasil. **Comun. Mus. Cienc. Tecnol. PUCRS** 12:72-82.
- GODINHO, A.L. 1994. Reproductive biology of *Triportheus guentheri* (Characiformes, Characidae) and the hydrological management of Três Marias Reservoir, Brazil. **Rev. Brasil. Biol.** 54 (3): 515-524.
- HARTZ, S.M; F.S. VILLELA & G. BARBIERI. 1997. Reproduction dynamics of *Oligosarcus jenynsii* (Characiformes, Characidae) in Lake Caconde, Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev. Bras. Biol.** 57 (2) 295-303.
- VON IHERING, R. & P. AZEVEDO.1936. As piabas dos açudes nordestinos (Characidae, Tetragonopterinae). **Arch. Inst. Biol.** 7:75-106.
- ITO, S. & M.J. KARNOVSKY. 1968. Formaldehyde-glutaraldehyde fixatives containing trinitro compounds. **J. Cell. Biol** 36: 168.
- JAMIESON, B.C.M. 1991. **Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa**. Cambridge, Cambridge University Press, 319p.
- KOYA, Y.; H. MUNEHARA; K. TAKANO & H. TAKAHASHI. 1993. Effects of extracellular environments on the motility of spermatozoa in several marine sculpins with internal gametic association. **Comp. Biochem. Physiol.** 106 A: 25-29.

- KUTAYAGIL, N. 1959. Insemination, sexual differentiation and secondary sex caracteres in *Stevardia albipinnis* Gill. **Hidriobiol. Univ. Istanbul Fen Fak. Mecumuasi Ser. B 24**: 93-128.
- MALABARBA, L.R. 1998. Monophyly of the Cheirodontinae, characters and major clades (Ostariophysi: Characidae), p. 193-233. In: L.R. Malabarba, R.E. Reis; R.P. Vari; Z.M.S. Lucena & C.A.S. Lucena (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Edipucrs, 603p.
- MALABARBA, L.R. & S.H. WEITZMAN. 1999. A new genus species of south american fishes (Teleostei: Characidae: Cheirodontinae) with a derived caudal fin, including comments about inseminating cheirodontinae. **Proc. Biol. Soc. Wash. 112** (2): 411-432.
- MALABARBA, L.R. & S.H. WEITZMAN. 2000. A new genus and species of inseminating fishes (Teleostei: Characidae: Compsurini) from South America with uniquely derived caudal-fin dermal papillae. **Proc. Biol. Soc. Wash. 113** (2): 269-283.
- MAZZONI, R. & J. PETITO. 1999. Reproductive biology of a Tetragonopterinae (Osteichthyes, Characidae) of the Ubatiba fluvial system, Marica-RJ. **Braz. Arch. Biol. Techn 42** (4): 455-461.
- MELO, F.A.G. 1997. **Biologia reprodutiva de *Pseudocorynopoma doriae* Perugiae, 1891 (Actinopterygii: Characiformes: Characidae), do arroio Ribeiro, Barra do Ribeiro, RS**. Dissertação de Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 36p.

OLIVEIRA, C.L.C., C.B. Falho & L.R. Malabarba. 2002. Período reprodutivo, desova e fecundidade de Cheirodon acuminatus Eigenmann, 1915

- MUNEHARA, H.; K. TAKANO & Y. KOYA. 1989. Internal gametic association and external fertilization in the elkhorn sculpin, *Alcichthys alcicornis*. **Copeia** **1989** (3):673-678.
- NEVES, C.A.; D.R. ANDRADE; S.L.P. MATTA; M.V. VIDAL-JUNIOR & A. A. SANTOS. 1996. The zona pellucida of the freshwater fish *Oligosarcus argenteus* Gunther (Pisces, Characidae): A cytochemical study. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** **48** (supl.1): 25-32.
- NIKOLSKI, G.V. 1969. **Theory of fish population dynamics**. Edinburgh, Oliver & Boyd Ltda. 323p.
- NÓBREGA-JÚNIOR, O.B. 1986. **Diagnóstico Ambiental do Município de Extremoz**. Monografia de Bacharelado em Geologia. Departamento de Geologia do Centro de Ciências Exatas. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil. 172p.
- NOMURA, H. 1975. Fecundidade, maturação sexual e índice gonadossomático de lambaris do gênero *Astyanax* Baird & Gaimard, 1854 (Osteichthyes, Characidae), relacionados com fatores ambientais. **Rev. Brasil. Biol.** **35** (4): 775-798.
- OLIVEIRA, C.L.C. 2000. **Biologia Reprodutiva e Estudo do Desenvolvimento dos Caracteres Sexuais Secundários de *Cheirodon ibicuihensis* Eigenmann, 1915 (Teleostei: Characidae: Cheirodontinae)**. Dissertação de Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 33p.
- OLIVEIRA, C.L.C.; C.B. Fialho & L.R. Malabarba. 2002. Período reprodutivo, desova e fecundidade de *Cheirodon ibicuihensis* Eigenmann, 1915

- (Ostariophysi: Characidae) do arroio Ribeiro, Rio Grande do Sul, Brasil.  
**Comun. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS sér. Zool.** **15** (1): 3-14.
- OLIVEIRA, M.L.A. A. 1991. Dados florísticos preliminares e elaboração da flórua vascular da Reserva Biológica do Ibicuí-Mirim, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, sér. Botânica **41**:141-154.
- RANDI, A.S.; J.M. MONSERRAT; E.M. RODRIGUEZ & L.A. ROMANO. 1996. Histopathological effects of cadmium on the gills of the freshwater fish, *Macropsobrycon uruguayanae* Eigenmann (Pisces, Atherinidae). **J. Fish Dis.** **19** (4): 311-322.
- ROBERTS, R.J. 1981. **Patologia de los peces**. Madrid, Ediciones Mundi-Preense, 366p.
- SANTOS, E.P. 1978. **Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura**. São Paulo: HUCITEC, Ed. da Univ. de São Paulo. 129 p.
- SANTOS, G.B.; L.N.V. BARROS & M.U. MENEZES. 1996. Fecundity of the *Astyanax bimaculatus* (Reinhardt, 1874) (Teleostei, Characidae) from upper Rio São Francisco basin, Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** **48** (suppl.1): 101-107.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1996. **Fisiologia animal - adaptação e meio ambiente**. São Paulo, Santos, 600p.
- SELMAN K. & R.A. WALLACE.1986. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. **Amer. Zool.** **26**: 173-192.
- SILVA, J.V.; D.R. ANDRADE & W.Y. OKANO. 1996. Desenvolvimento sexual e crescimento de lambaris-tambíú, *Astyanax bimaculatus*, Linnaeus, 1758

- submetidos a diferentes tipos de alimentação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** **48** (supl. 1):33-38.
- SILVEIRA, M.P.M.; J.C.B. COUSIN & M. HAIMOVICI. 1995. Estrutura ovárica e testicular do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839). **Atlântica** **17**: 135-152.
- SIMPSON, A.C. 1951. The fecundity of the place. **Fish. Invest. sér. 2**, **17** (5):27.
- TELES, M.E.D.O. & H.P. GODINHO. 1997. Reproductive cycle of the "pirambeba" *Serrasalmus brandtii* (Teleostei, Characidae) from Três Marias reservoir, São Francisco River, Brazil. **Rev. Bras. Biol.** **57**(2) 177-184.
- VAZZOLER, A.E.A.M. 1996. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Editora da Universidade de Maringá, Maringá. 169p.
- VAZZOLER A.E.A.M. & N.A. MENEZES.1992. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysii). **Rev. Brasil. Biol.** **52** (4):627-640.
- WILEY, M.L. & B.B. COLLETTE.1970. Breeding tubercles and contact organs in fishes: their occurrence, struture, and significance. **Bull. Am. Mus. Nat. Hist.** **143** (3): 145-216.

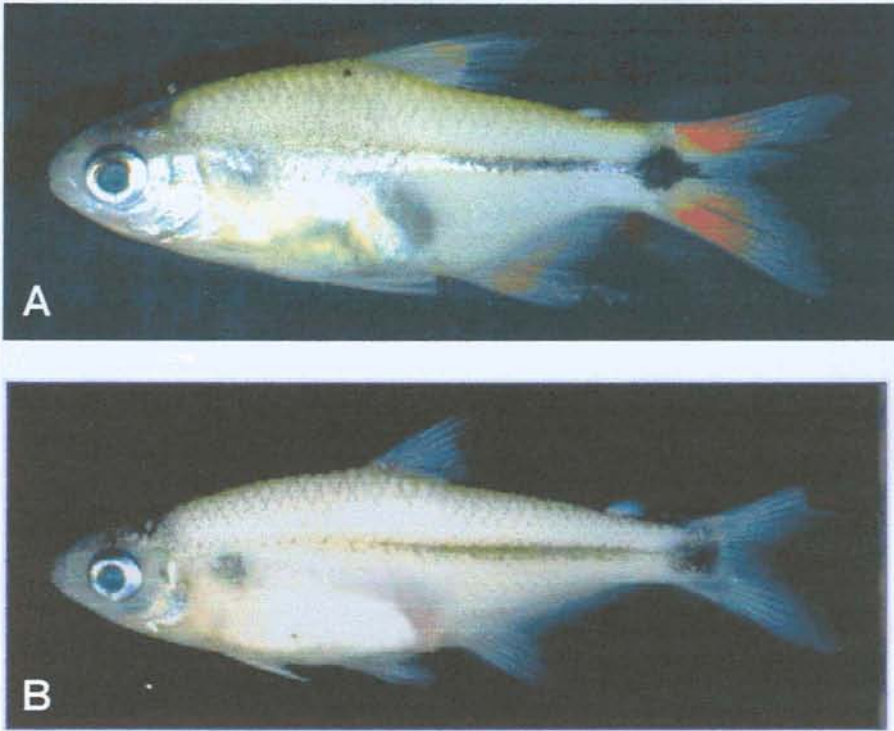


Fig. 1.A: *Compsura heterura* (fêmea, 27 mm CP), rio Ceará-Mirim, Rio Grande do Norte, Brasil. B: *Odontostilbe* sp. (fêmea, 39 mm CP), rio Ibicuí-Mirim, Rio Grande do Sul, Brasil.





Fig. 2: Localidade de coleta de *Compsura heterura*, rio Ceará-Mirim ( $5^{\circ} 37' 47''$  S,  $35^{\circ} 37' 9''$  O), Rio Grande do Norte, Brasil.

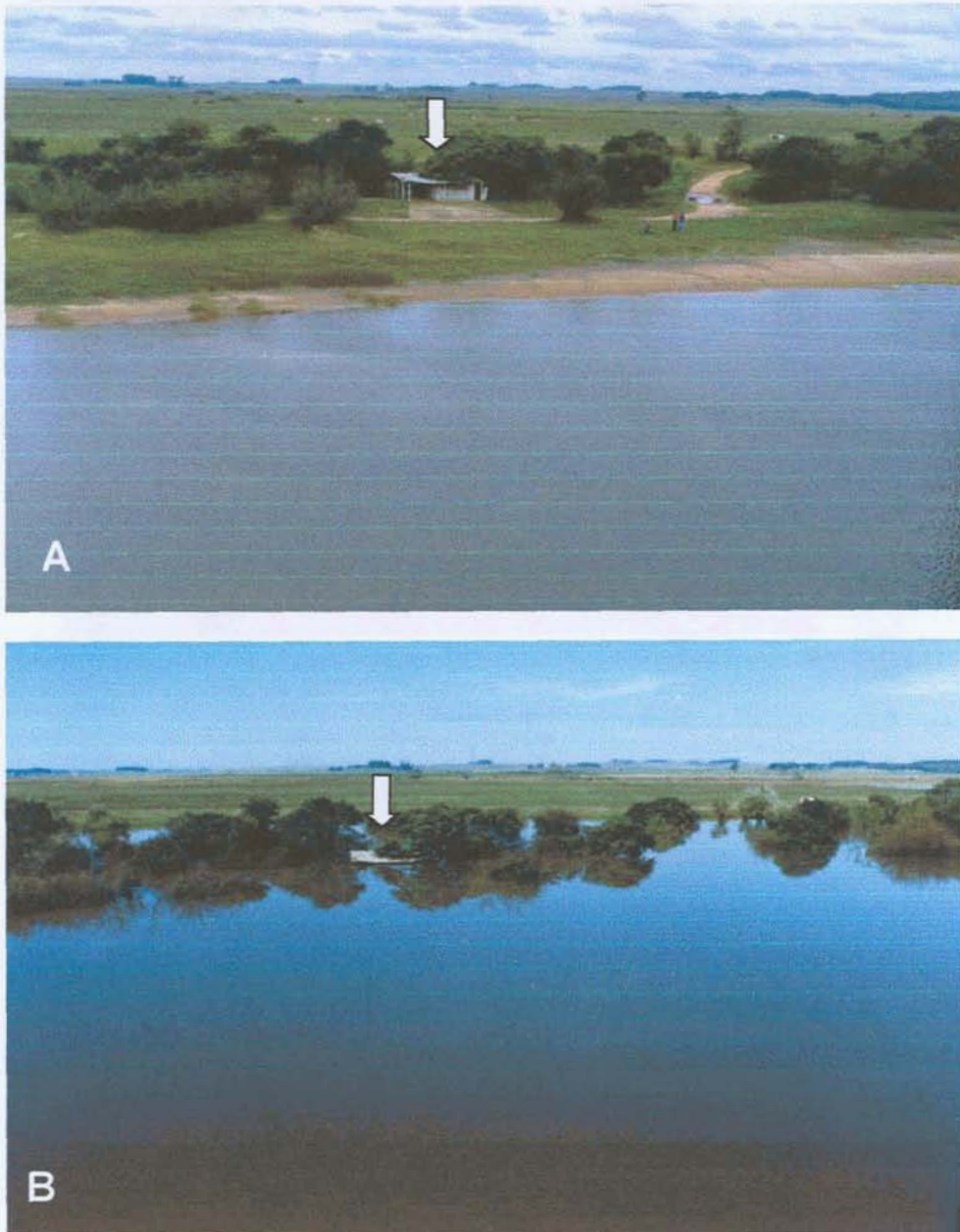


Fig. 3: Localidade de coleta de *Odontostilbe* sp. no rio Ibicuí-Mirim ( $29^{\circ} 50' 14''$  S,  $54^{\circ} 47' 53''$  O), entre os municípios de Cacequi e São Vicente, Rio Grande do Sul, Brasil. Imagens do mesmo local, em diferentes períodos. **A:** período de seca inverno. **B:** período de chuva. A seta mostra a mesma casa nos dois períodos.

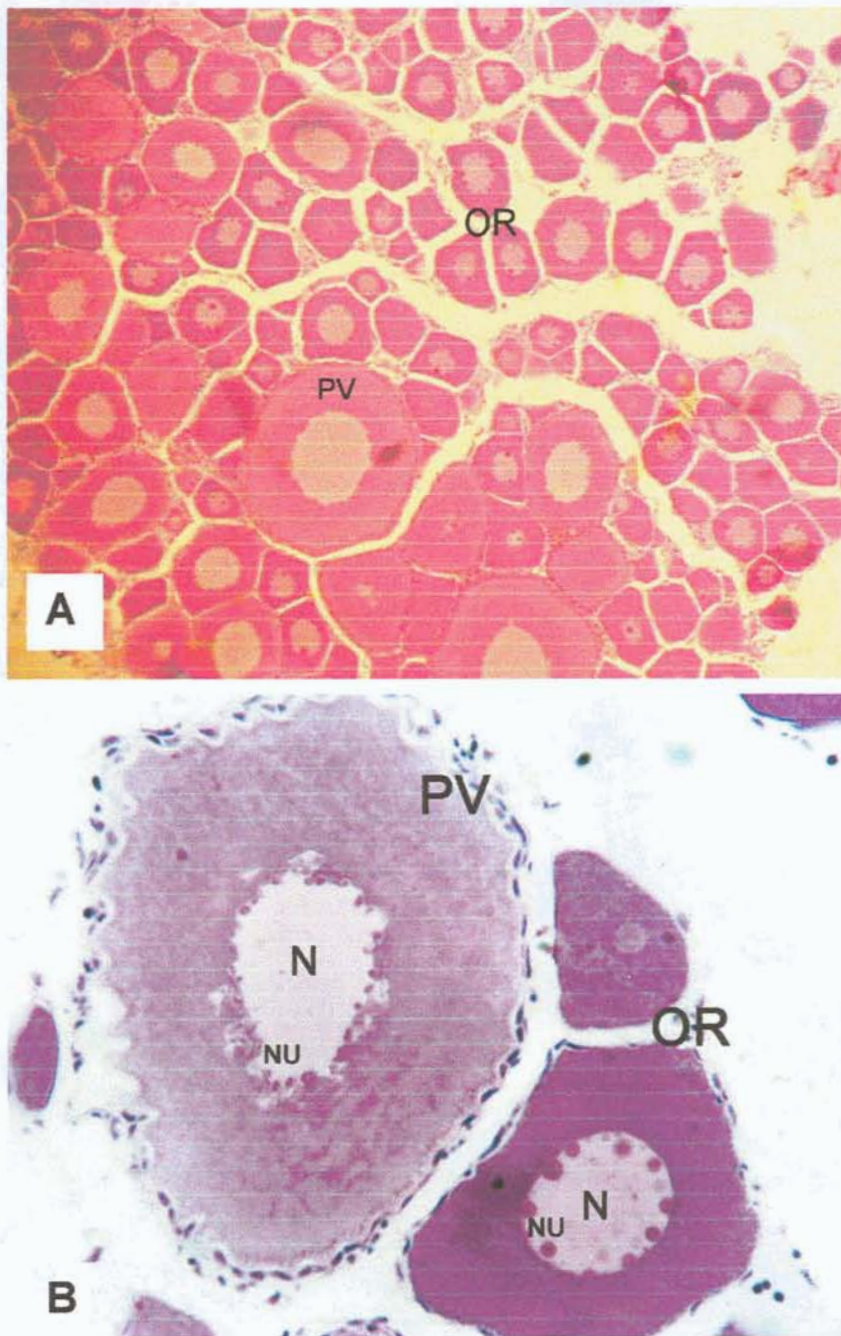


Fig. 4. Cortes histológicos de ovários em maturação de *Compsura heterura*. HE. Ovócitos de reserva (OR) de diferentes tamanhos, ovócitos previtelogênicos (PV), núcleos (N) e nucléolos (NU). **A:** (29,08 mm CP), aumento 10x. **B:** (29,51mm CP), aumento 20x.

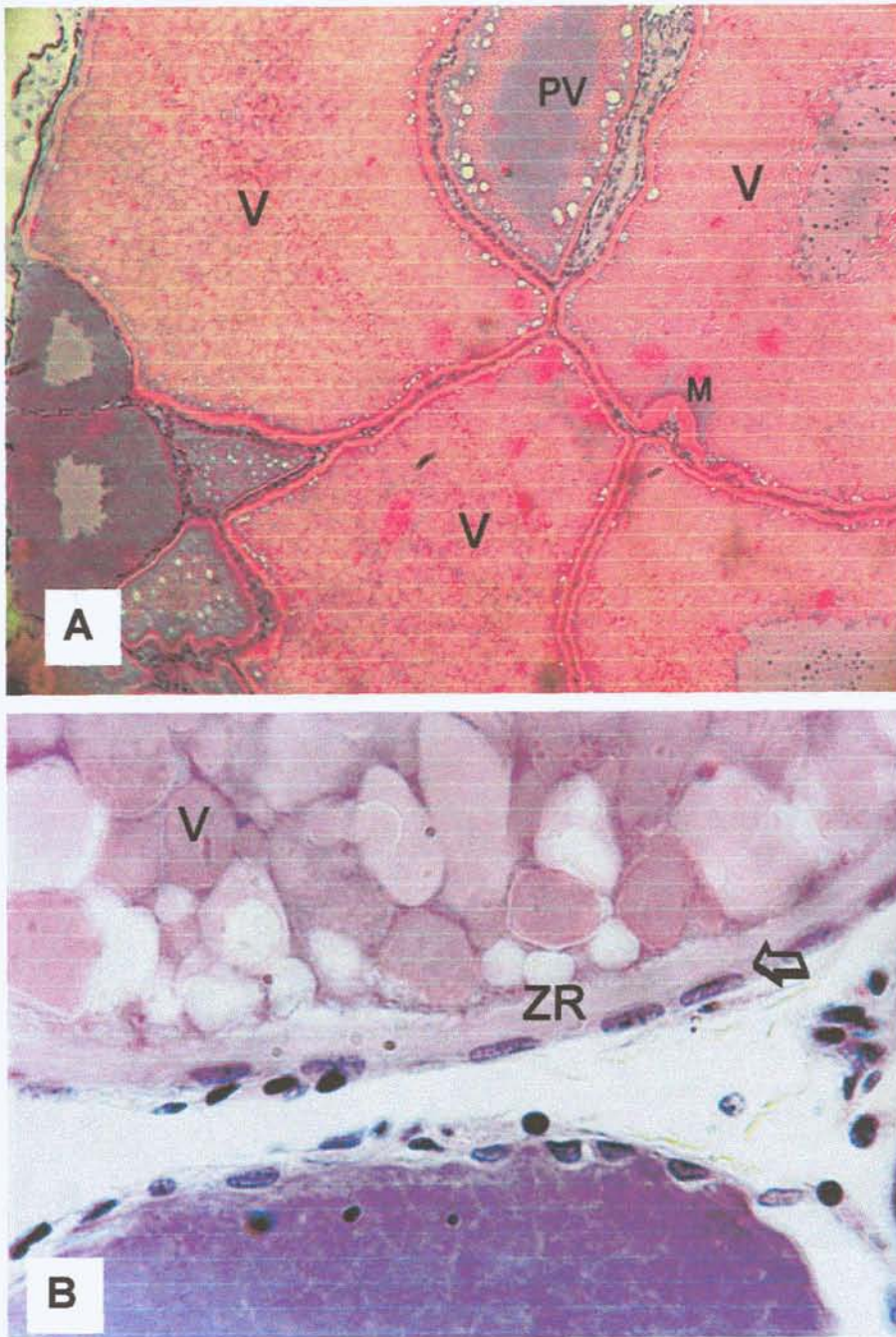


Fig. 5. Cortes histológicos em ovários maduros de *Compsura heterura*. HE. **A:** Ovócitos vitelogênicos (V), ovócito pré-vitelogênico (PV), micrúpila (M). (27,78 mm CP), aumento 20x. **B:** Zona radiata (ZR) do ovócito vitelogênico (V) e células foliculares (seta). (30,13 mm CP), aumento 100x.

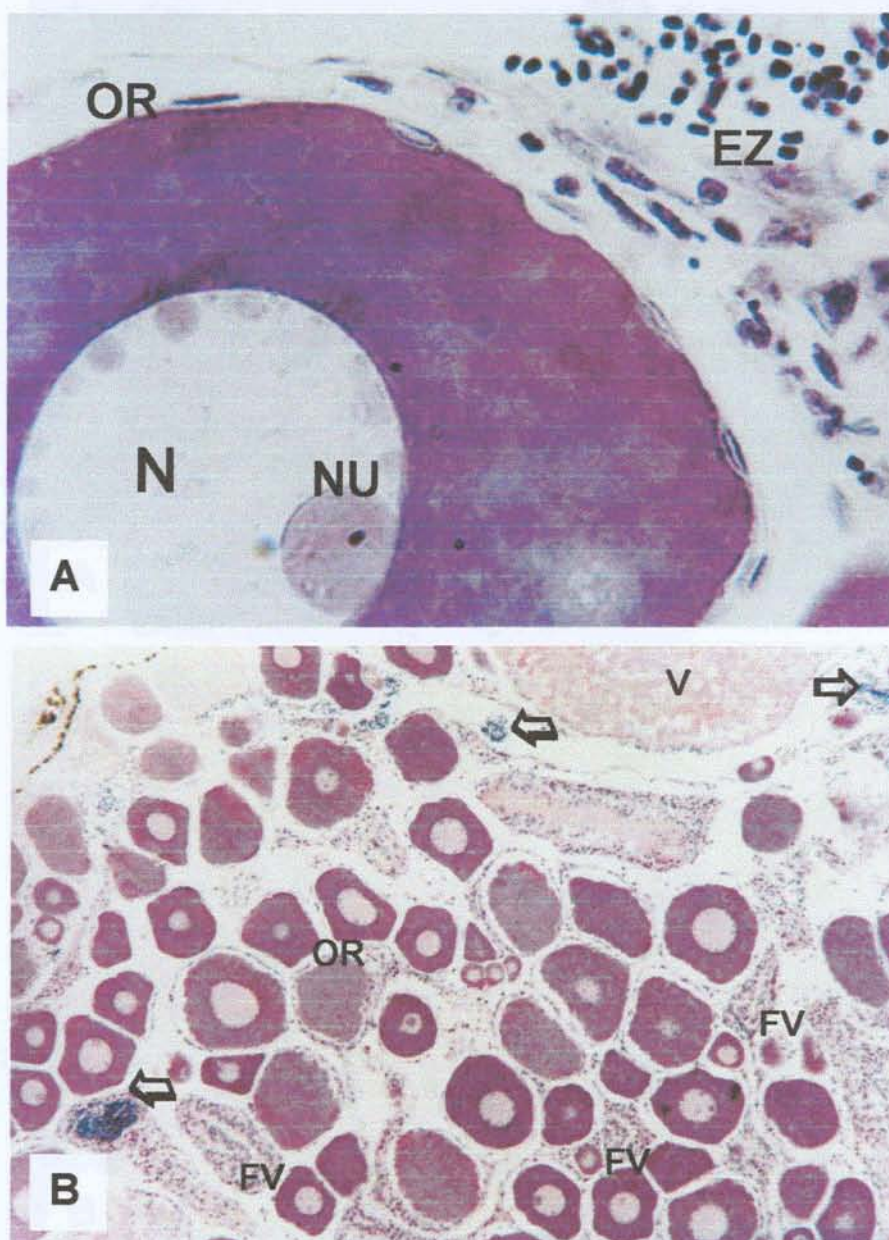


Fig. 6. Corte histológico de um ovário semi-esgotado de *Compsura heterura*. (30,13 mm CP). HE. **A:** Núcleo (N) e nucléolos (NU) do ovócito de reserva (OR) e espermatozoides (EZ). Tamanho 100x. **B:** Ovócitos de reserva de diferentes tamanhos (OR), vários folículos vazios (FV), ovócito vitelogênico (V) e espermatozoides (setas). Tamanho 10x.

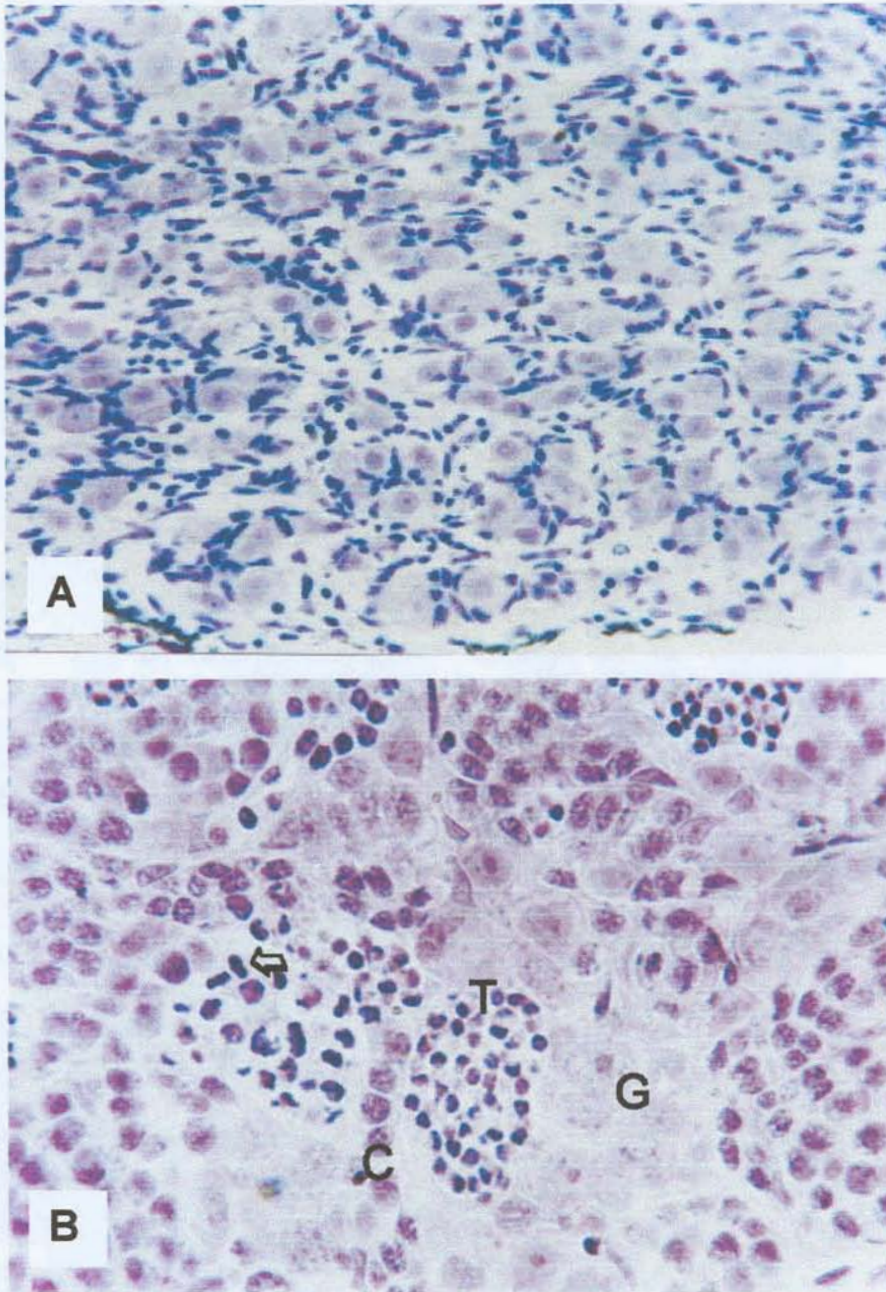


Fig. 7. **A:** Gônada de um macho imaturo de *C. heterura* (25,87 mm CP). Aumento 40x. **B:** Gônada de um macho em maturação de *Odontostilbe* sp. (37,0 mm CP). Espermatogônias (G), espermatócitos (C), espermatócitos em divisão celular (seta) e espermatídes (T). Aumento 100x.

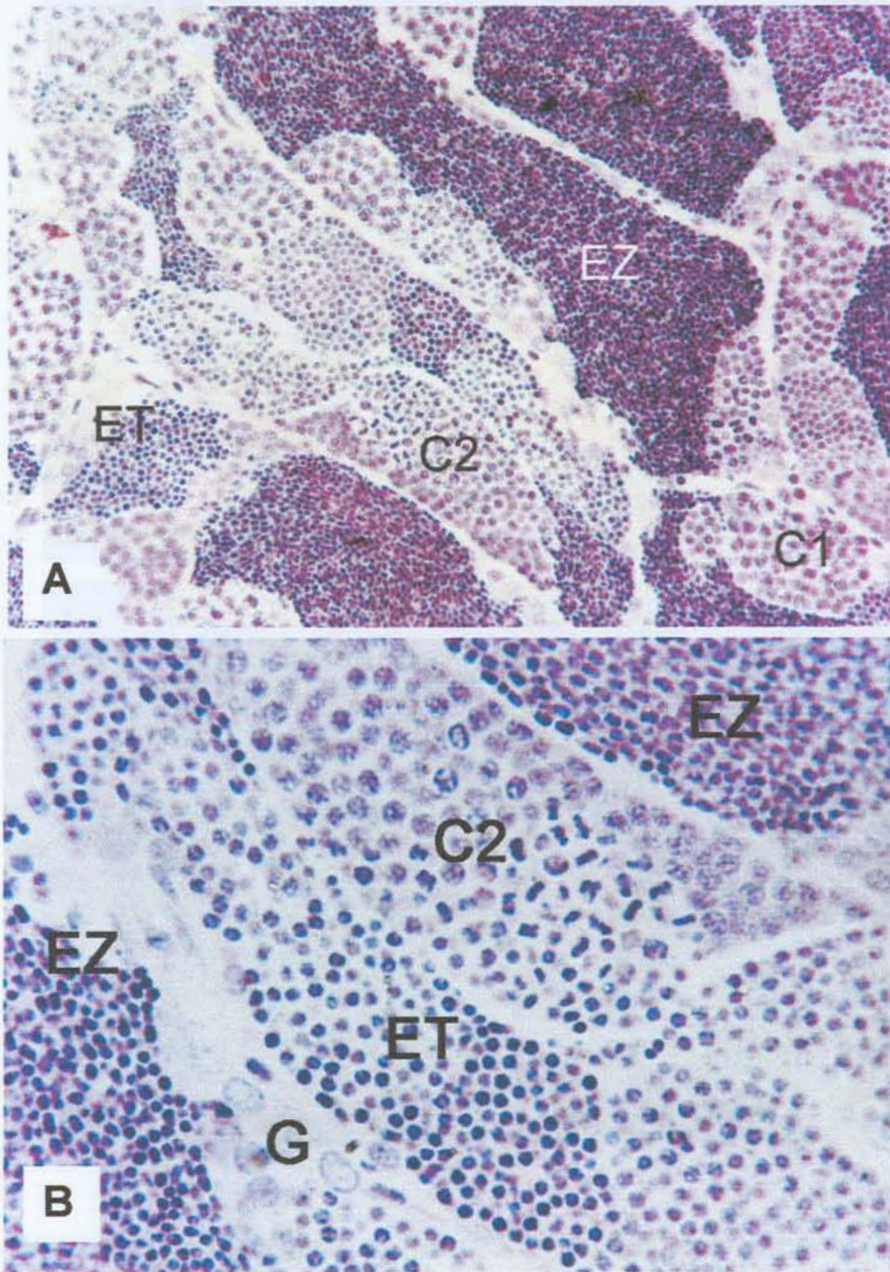


Fig. 8. Gônada de um macho maduro de *C. heterura* (27 mm CP). HE. Espermátogônias (G), espermátocitos primários (C1), espermátocitos secundários (C2), e espermátides (T), espermatozóides (EZ). **A:** Aumento 40X. **B:** Aumento 100x.

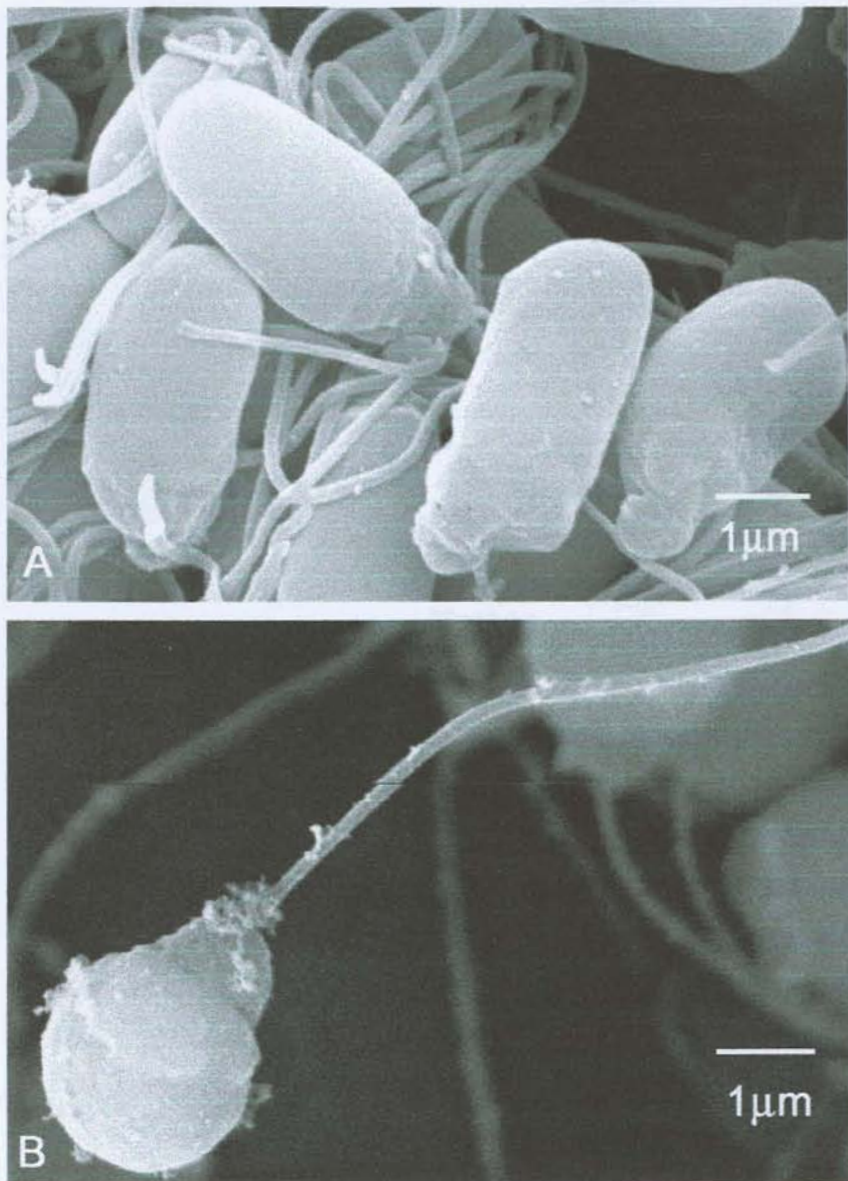


Fig. 9. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos espermatozoides de *Compsura heterura* (A), com núcleo levemente alongado, e de *Odontostilbe sp.* (B) com núcleo arredondado (aquasperma).



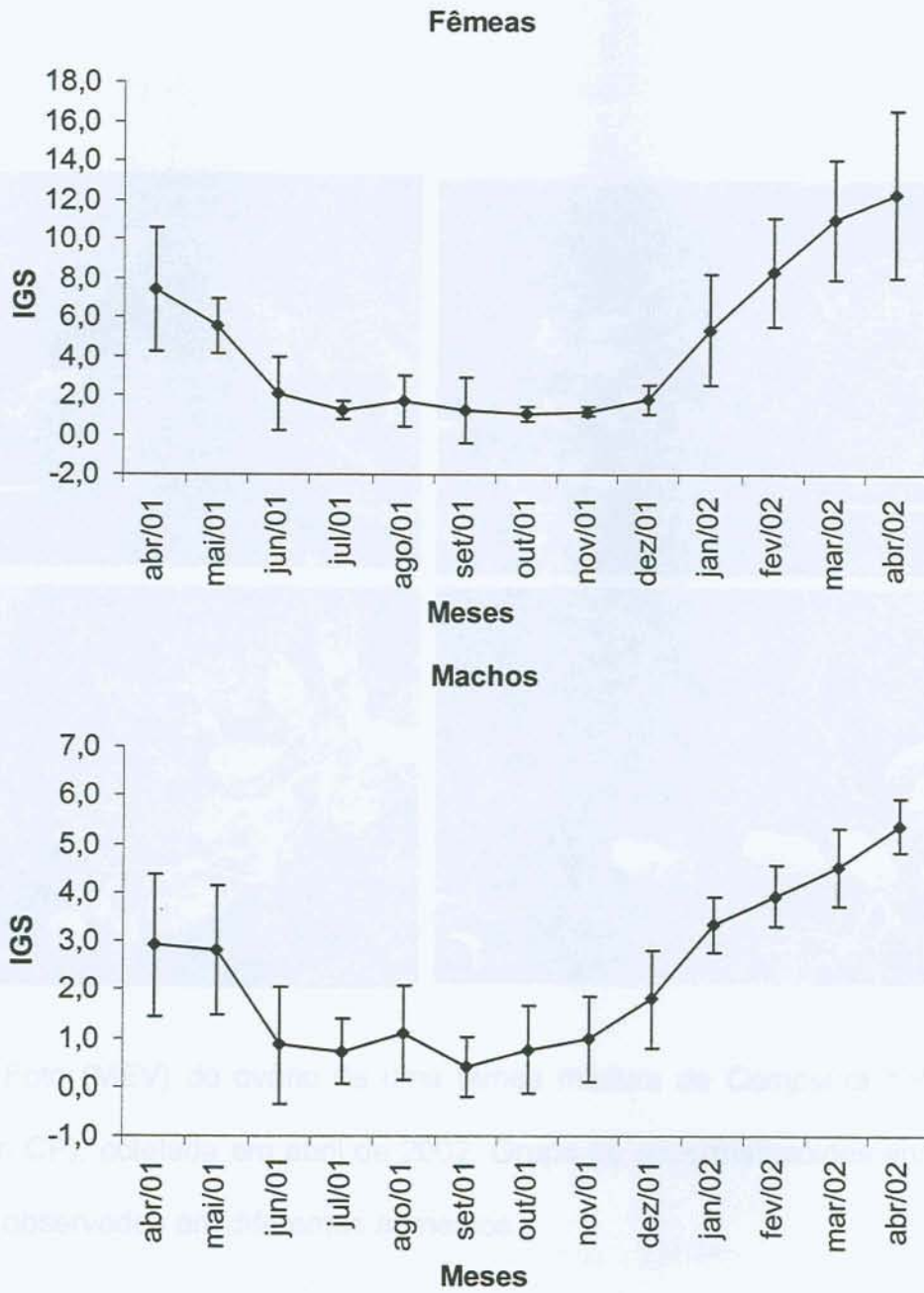


Fig. 10. Variação mensal das médias de IGS ( $\pm$  desvio padrão) em fêmeas e machos de *Compsura heterura* do rio Ceará Mirim, RN, entre os meses de abril de 2001 e abril de 2002.

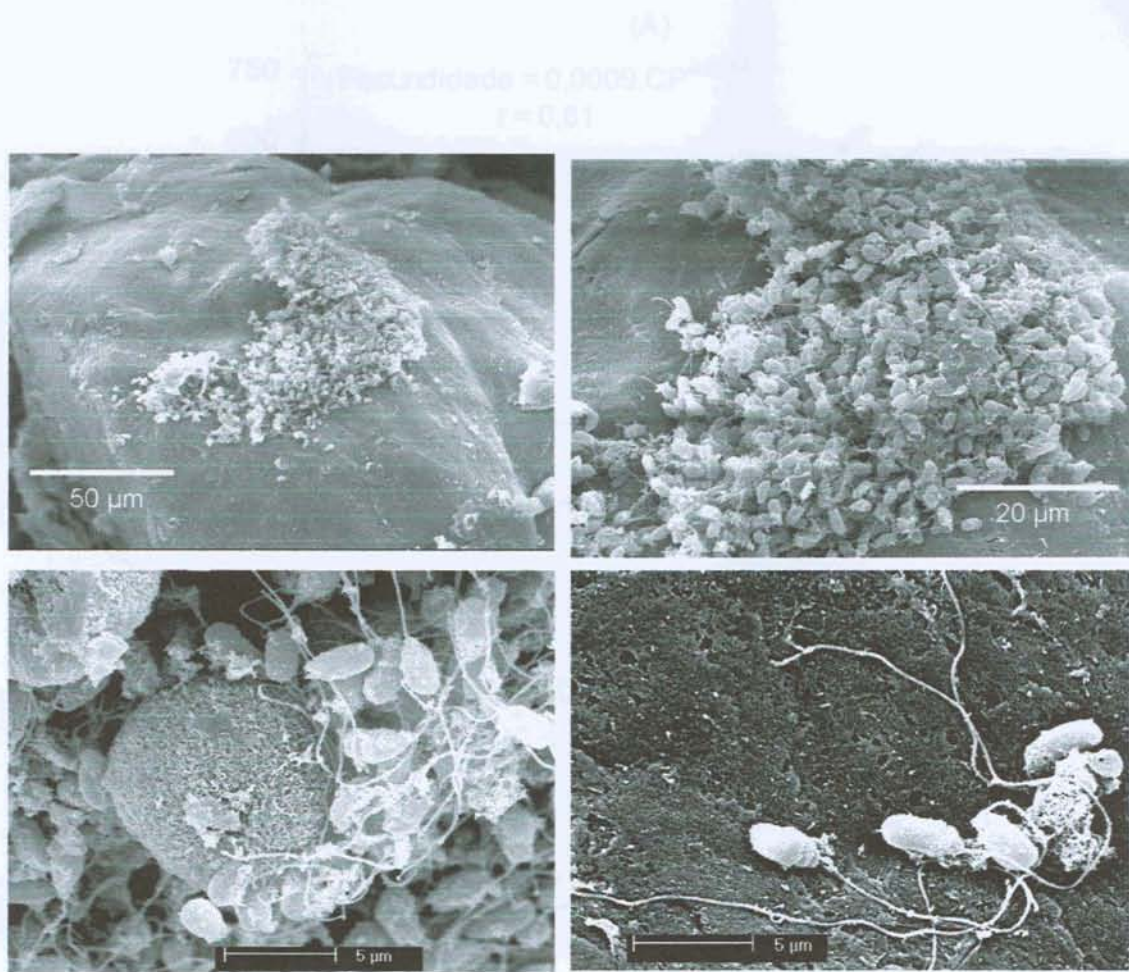


Fig. 11. Foto (MEV) do ovário de uma fêmea madura de *Compsothrips heterura* (30,4 mm CP), coletada em abril de 2002. Grupo de espermatozoides entre os ovócitos observados em diferentes aumentos.

Fig. 12. Relação entre fecundidade absoluta (número de ovócitos) e comprimento corporal de fêmeas de *Compsothrips heterura* (A) do rio Canoas, RS, IRL, e de *Compsothrips sp.* (B), do rio Ibicuí Mirim, RS. Coletadas entre os meses de abril de 2001 e abril de 2002 e entre os meses de setembro 2001 e março de 2002, respectivamente.

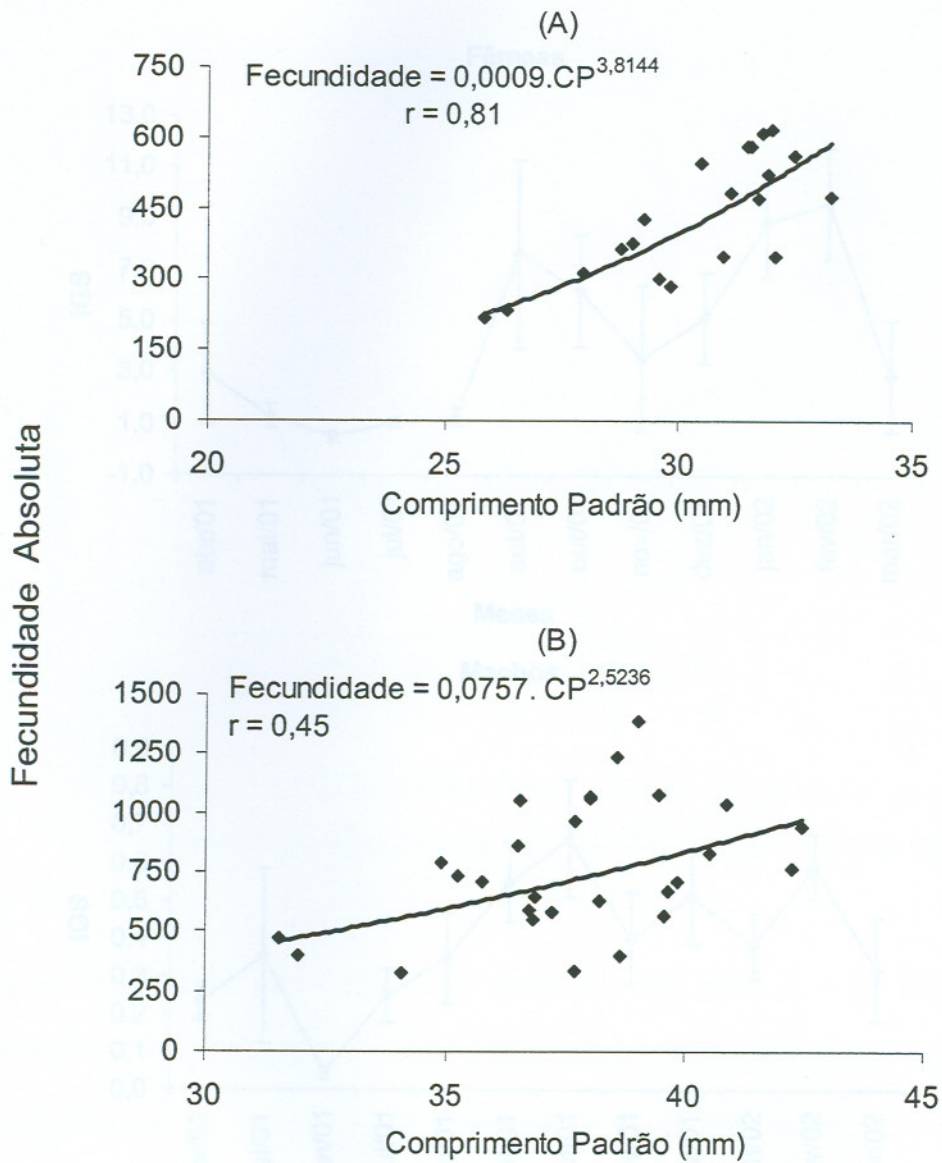


Fig. 12. Relação entre fecundidade absoluta (número de ovócitos) e comprimento padrão de fêmeas de *Compsura heterura* (A), do rio Ceará-Mirim, RN, e de *Odontostilbe* sp. (B), do rio Ibicuí Mirim, RS. Coletados entre os meses de abril de 2001 e abril de 2002 e entre os meses de abril de 2001 e março de 2002, respectivamente.

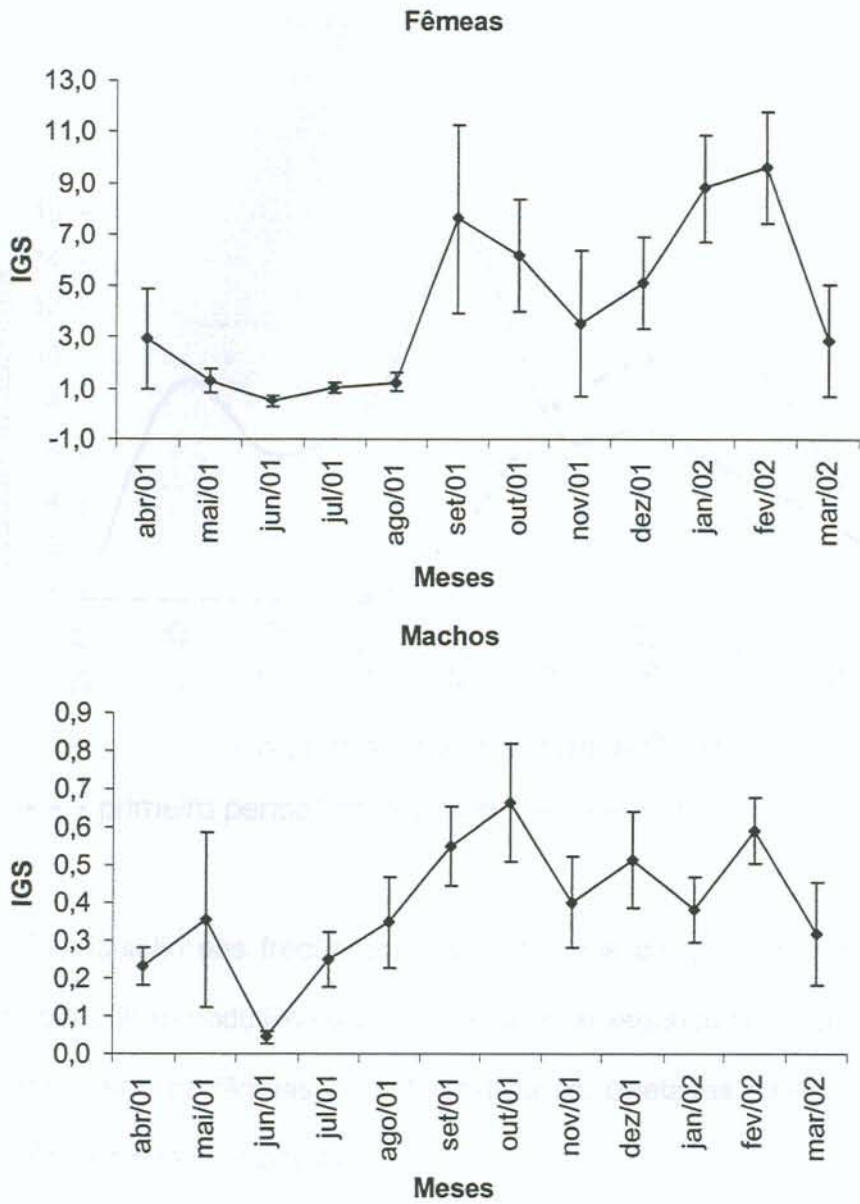


Fig. 13. Variação mensal das médias de IGS ( $\pm$  desvio padrão) em fêmeas e machos de *Odontostilbe* sp. do rio Ibicuí Mirim, RS, entre os meses de abril de 2001 e março de 2002.

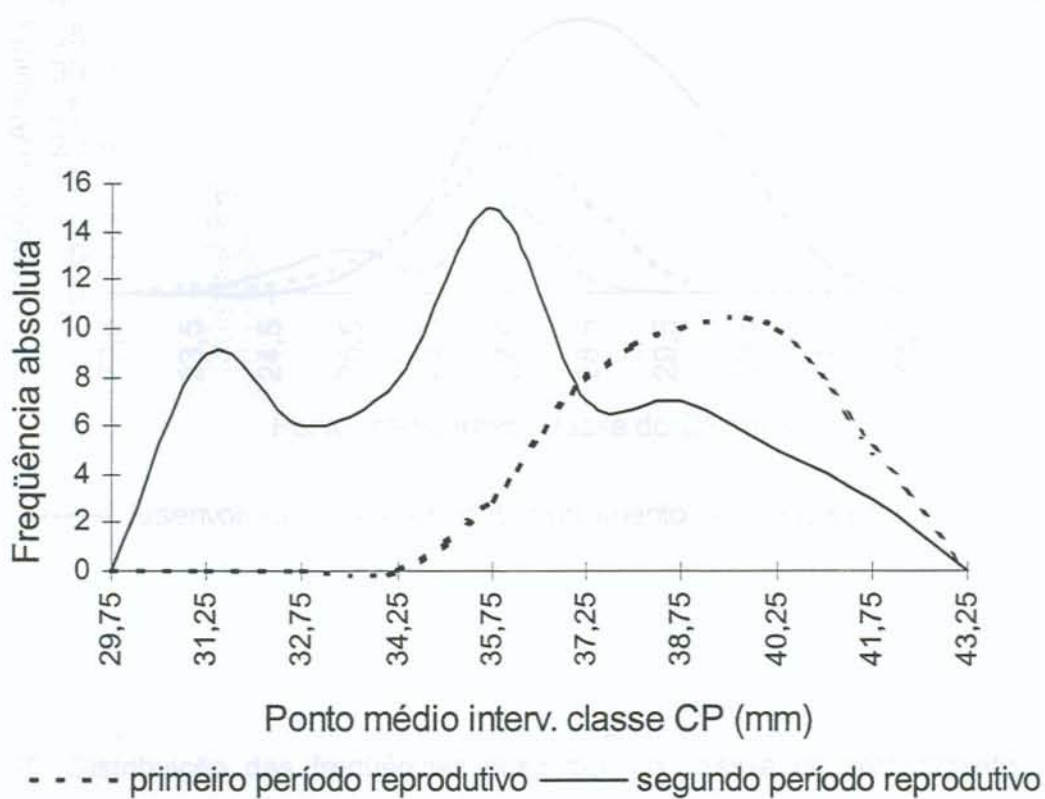


Fig.14. Distribuição das frequências absolutas dos comprimentos padrões no primeiro período reprodutivo (setembro/outubro) e segundo período reprodutivo (janeiro/fevereiro) de fêmeas de *Odontostilbe* sp. coletadas no rio Ibicuí-Mirim (RS). CP= comprimento padrão.

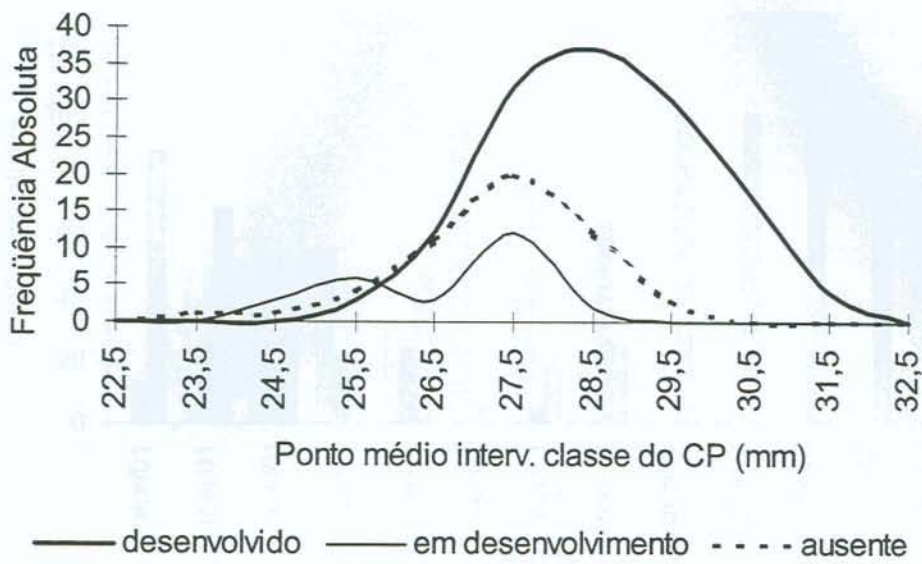


Fig. 15. Distribuição das frequências absolutas por classe de comprimento padrão de machos de *Compsura heterura* classificados de acordo com diferentes fases desenvolvimento dos ganchos; coletados no rio Ceará-Mirim, RN, no período de abril de 2001 a abril de 2002. CP= comprimento padrão.

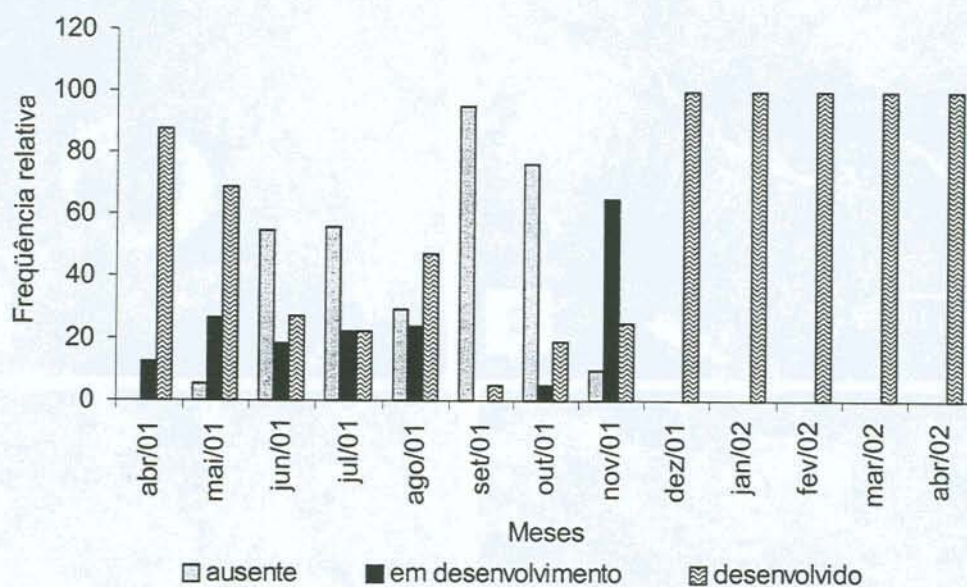


Fig. 16. Distribuição das freqüências relativas mensais de machos de *Compura heterura* classificados de acordo com diferentes fases desenvolvimento dos ganchos. Coletados no rio Ceará- Mirim, RN, durante o período de abril de 2001 a abril de 2002.

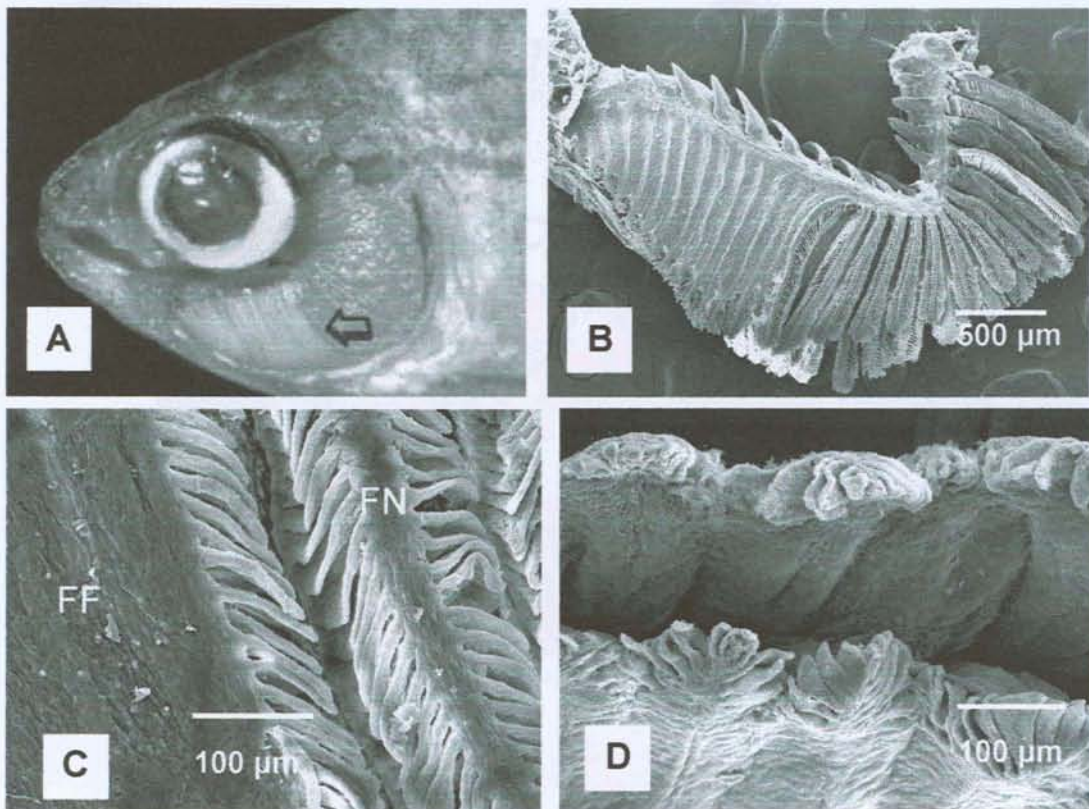


Fig. 17. Glândula branquial em machos maduros de *Compsoheterura heterura*. **A:** Localização da glândula branquial na região anterior do ramo ventral do primeiro arco branquial (seta). Macho de 29,9 mm CP. **B:** Foto de Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) do primeiro arco branquial esquerdo com filamentos branquiais fusionados formando a glândula branquial e filamentos normais não fusionados e com função respiratória. Macho com 29,40 mm CP. **C:** Foto (MEV) em detalhe do primeiro arco branquial esquerdo mostrando filamentos branquiais fusionados (FF) e filamentos normais (FN). Macho com 36,90 mm CP. **D:** Foto em vista ventral das duas hemibrânquias do primeiro arco branquial, formando a glândula branquial. Macho de 30,7 mm CP.

Unidade Acadêmica (U.S.) Filamento primário (FP) A. Chaves, 1992



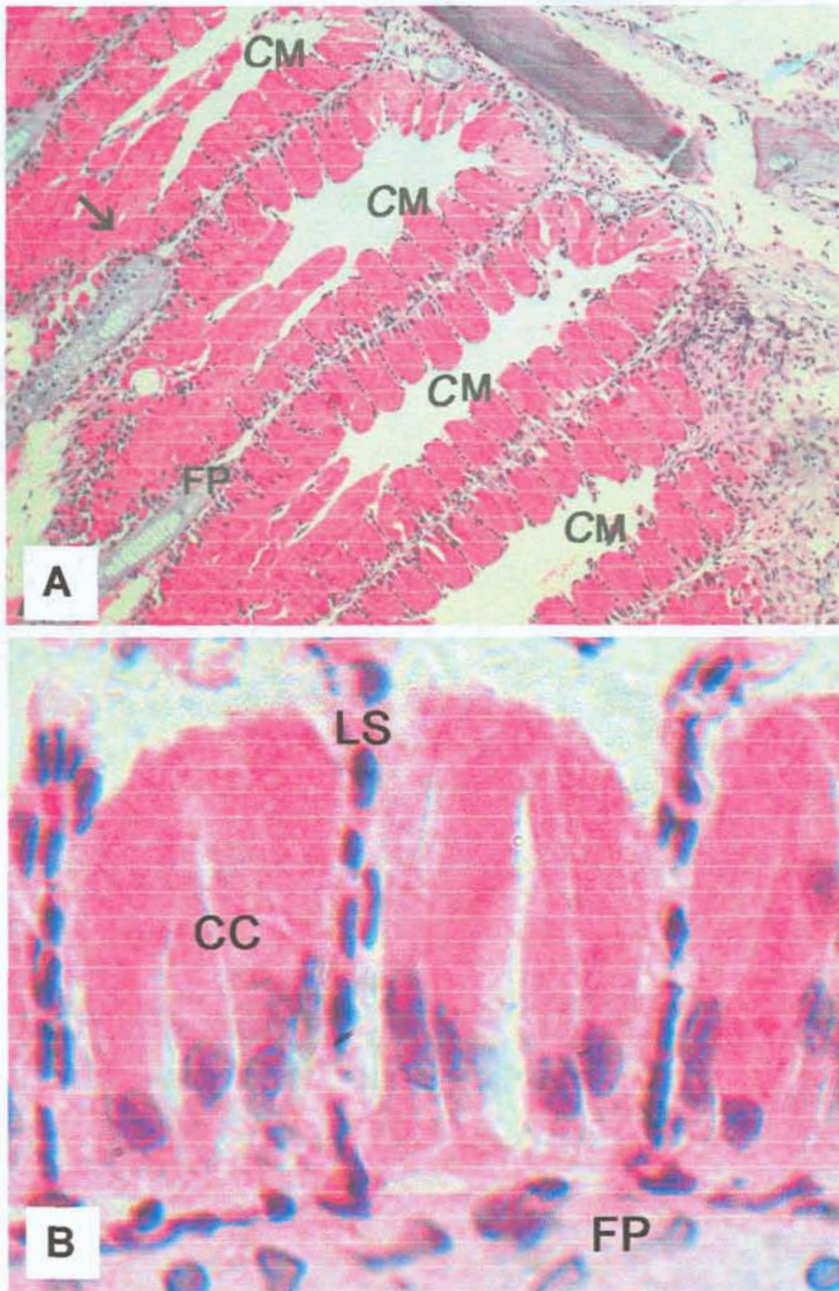


Fig. 18. Corte sagital do primeiro arco branquial de um macho de *Compsura heterura* (28 mm CP). HE. **A:** Câmaras (CM) existentes entre os filamentos primários (FP) modificados da glândula branquial. A seta indica um local com a perda de lamelas secundárias. Aumento 20x. **B:** Células cilíndricas (CC) entre as lamelas secundárias (LS). Filamento primário (FP). Aumento 100x.

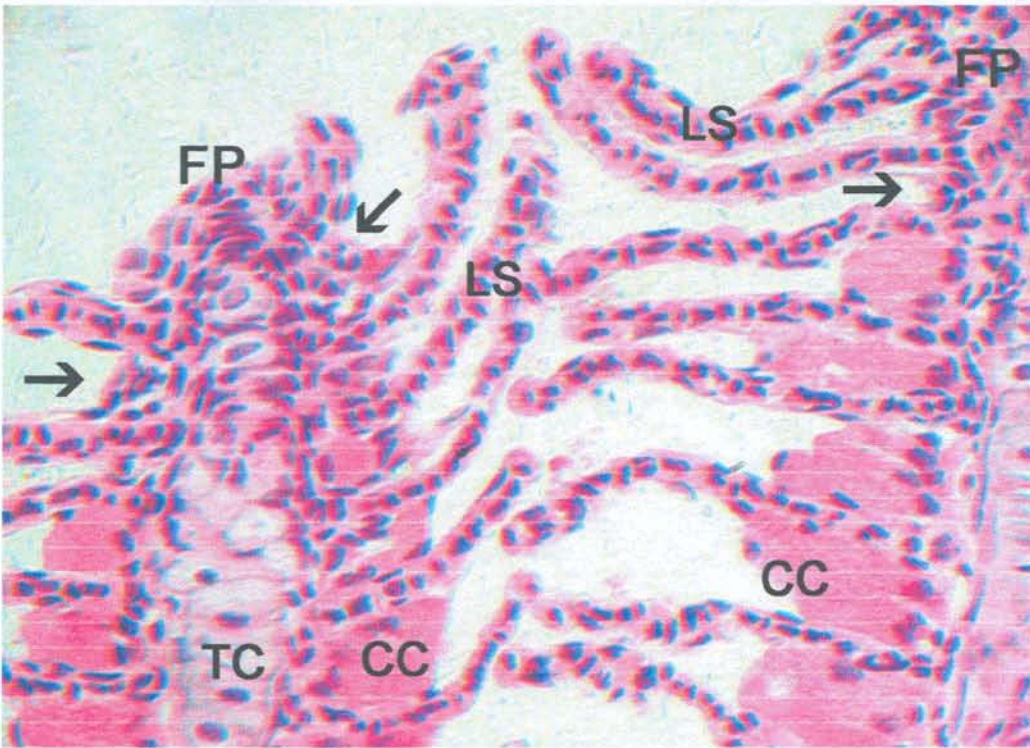


Fig. 19. Corte sagital do primeiro arco branquial de um macho de *Compsura heterura* (28 mm CP). As lamelas secundárias, dos filamentos primários (FP) da glândula branquial, são preenchidas por células cilíndricas (CC). Estas células não são encontradas na extremidade distal dos filamentos primários (setas). Tecido cartilaginoso (TC). Aumento 40x.

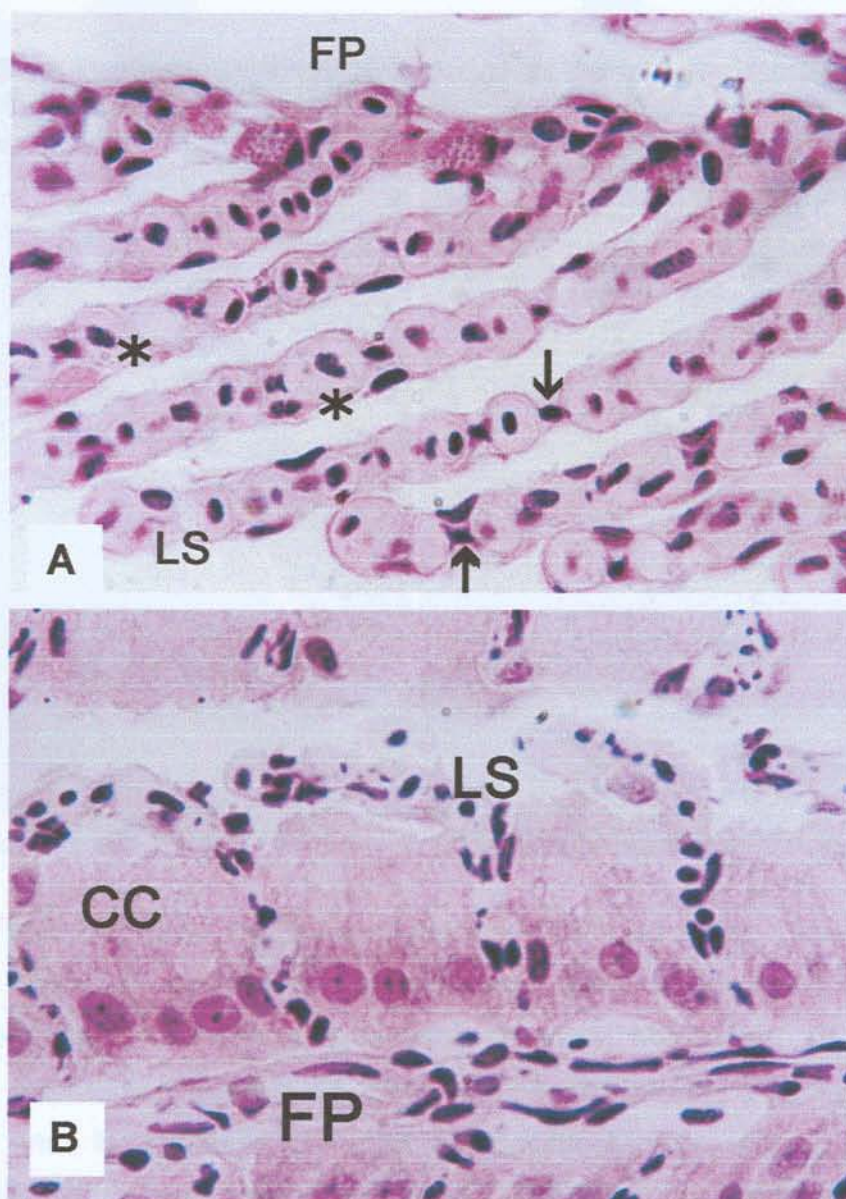


Fig. 20. Corte sagital do primeiro arco branquial de machos de *Odontostilbe* sp. HE. **A:** Filamentos primários (FP) não modificados e com função respiratória, capilares com hemácias (\*), células de sustentação "pillar cell" (setas). (Macho com 39,23 mm CP. Aum.100x. **B:** Filamentos primários (FP) modificados da glândula branquial, com células cilíndricas (CC) entre as lamelas secundárias (LS). Macho com 35,81 mm CP. Aum.100x.

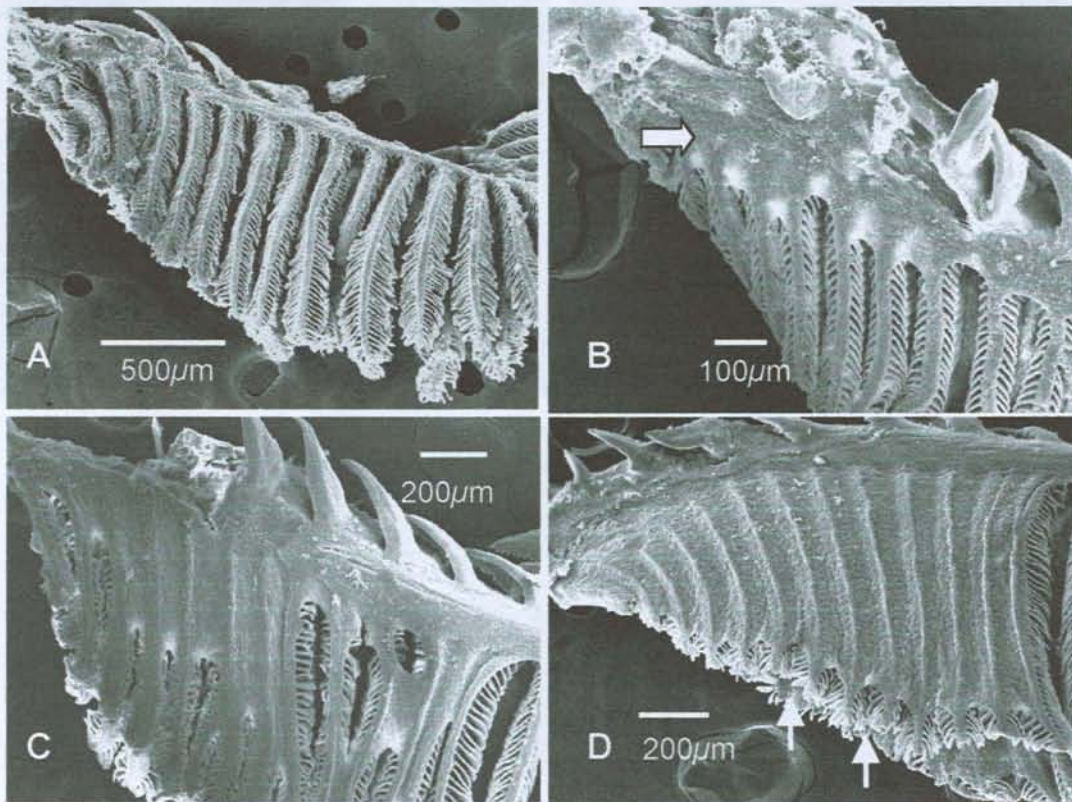


Fig. 21. Fotos em MEV do primeiro arco branquial esquerdo em machos de *Compsura heterura* demonstrando diferentes fases de desenvolvimento da Glândula branquial. **A:** Ausência da glândula branquial. Macho com 25,87 mm CP; IGS: 0,17; coletado em outubro de 2001; com gônada imatura e sem ganchos na nadadeira anal. **B:** Glândula branquial em desenvolvimento inicial, com tecido epitelial iniciando o recobrimento da região proximal dos filamentos primários (seta). Macho com 23,91 mm CP; IGS:0,53; coletado em julho de 2001; apresentava gônada em maturação inicial e ausência de ganchos na nadadeira anal. **C:** Glândula branquial em desenvolvimento. Macho com 28,33 mm CP; IGS: 0,57; coletado agosto de 2001; apresentava gônada em maturação e ganchos da nadadeira anal em desenvolvimento (pequena elevação). **D:** Glândula branquial desenvolvida, permanecendo uma abertura entre cada par de filamentos primários (setas). Macho com 28,65 mm de CP; IGS: 1,90; coletado em agosto de 2001; apresentava gônada madura e ganchos da nadadeira anal desenvolvidos.

2001) apresentava gônada madura e ganchos da nadadeira anal desenvolvidos.

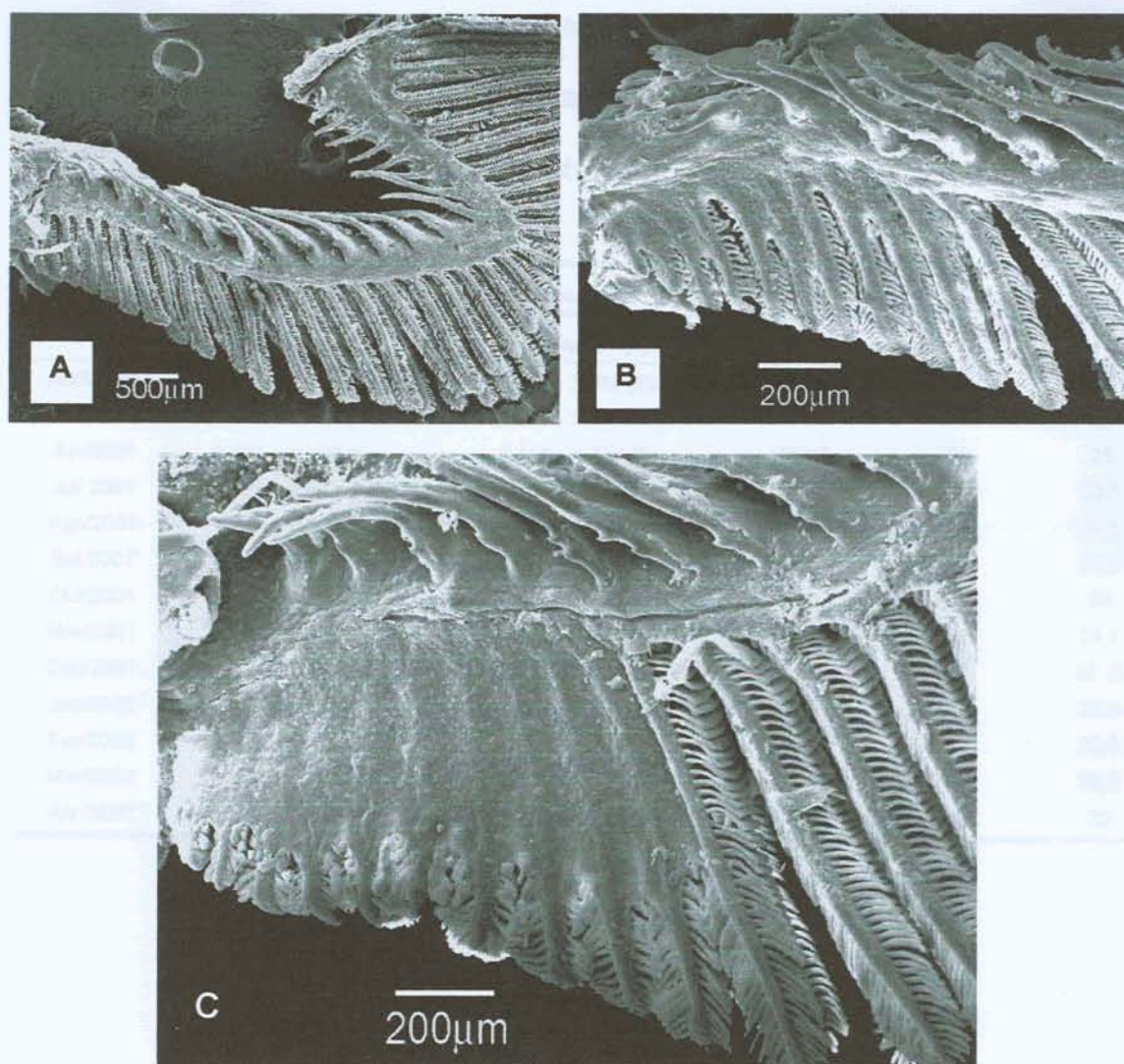


Fig. 22. Fotos em MEV do primeiro arco branquial esquerdo em machos de *Odontostilbe* sp. demonstrando diferentes fases de desenvolvimento da glândula branquial. **A:** Ausência da glândula branquial. Macho com 26,4 mm CP; IGS: 0,07; coletado em junho de 2001; com gônada imatura e sem ganchos na nadadeira anal. **B:** Glândula branquial em desenvolvimento inicial, com tecido epitelial iniciando o recobrimento da região proximal dos filamentos primários mais ventrais. Macho com 39,23 mm CP; IGS:0,26; coletado em agosto de 2001; apresentava gônada madura e ganchos até o sexto raio ramificado. **C:** Glândula branquial desenvolvida, permanecendo uma abertura entre cada par de filamentos primários (setas). Macho com 37,92 mm de CP; IGS: 1,0; coletado em outubro de 2001; apresentava gônada madura e ganchos até o sexto raio ramificado.

Tabela I: Variação mensal de abril de 2001 a abril de 2002 do índice gonadossomático médio (IGS)  $\pm$  desvio padrão em machos e fêmeas de *Compsura heterura* e variação mensal dos dados abióticos do rio Ceará Mirim, RN. n = número de exemplares amostrados mensalmente.

Meses	IGS médio $\pm$ desvio padrão		Pluviosidade (mm)	Fotoperíodo (minutos)	Temperatura (° C)
	machos(n)	fêmeas (n)			
Abril/2001	2,915 $\pm$ 1,464 (16)	7,385 $\pm$ 3,139 (23)	192,5	716	32,65
Mai/2001	2,800 $\pm$ 1,331 (19)	5,529 $\pm$ 1,376 (16)	11,6	712	27
Jun/2001	0,856 $\pm$ 1,202 (11)	2,115 $\pm$ 1,859 (2)	108,3	708	26
Jul/ 2001	0,728 $\pm$ 0,671 (14)	1,252 $\pm$ 0,451 (5)	37	709	23,5
Ago/2001	1,114 $\pm$ 0,956 (21)	1,705 $\pm$ 1,310 (19)	20,4	714	24,5
Set/2001	0,410 $\pm$ 0,622 (20)	1,271 $\pm$ 1,689 (20)	0	724	21,5
Out/2001	0,769 $\pm$ 0,897 (20)	1,070 $\pm$ 0,355 (19)	0	733	24
Nov/2001	0,975 $\pm$ 0,883 (20)	1,196 $\pm$ 0,263 (20)	18,2	741	24,5
Dez/2001	1,800 $\pm$ 1,004 (20)	1,832 $\pm$ 0,746 (20)	3,6	747	28,75
Jan/2002	3,341 $\pm$ 0,556 (20)	5,382 $\pm$ 2,817 (20)	103	742	27,5
Fev/2002	3,924 $\pm$ 0,636 (20)	8,363 $\pm$ 2,794 (20)	57,8	734	28,5
Mar/2002	4,516 $\pm$ 0,808 (20)	11,026 $\pm$ 3,084 (20)	180,1	728	29,5
Abr/2002	5,375 $\pm$ 0,554 (20)	12,353 $\pm$ 4,283 (20)	36	716	30

Tabela II: Correlação entre IGS médio mensal de machos e fêmeas de *Compsura heterura* e os dados abióticos (pluviosidade, temperatura e fotoperíodo).

Índice gonadossomático e dados abióticos		R	p
IGS x pluviosidade	Machos	0,5172	0,0703
	Fêmeas	0,6355	0,0196 *
IGS x temperatura	Machos	0,8831	0,0001 *
	Fêmeas	0,8501	0,0002 *
IGS x fotoperíodo	Machos	0,2531	0,4041
	Fêmeas	-0,0137	0,9644

\* valores considerados significativos ( $p < 0,05$ )

Tabela III: Comprimento padrão (CP), índice gonadossomático (IGS), fecundidade absoluta (FA) e fecundidade relativa (FR) de 20 fêmeas de *Compsura heterura*. Para fecundidade absoluta é fornecida a média  $\pm$  desvio padrão.

CP	IGS	FA	FR
33,26	12,10	475	0,47
32,49	11,91	562	0,53
32,09	9,70	350	0,37
32,02	15,10	618	0,65
31,92	18,35	525	0,61
31,8	18,05	612	0,71
31,73	12,38	474	0,53
31,55	13,14	583	0,61
31,49	14,31	582	0,61
31,1	9,90	486	0,56
30,96	10,75	351	0,42
30,47	12,98	546	0,72
29,84	9,93	284	0,39
29,58	9,58	303	0,46
29,26	12,48	427	0,56
29	15,36	377	0,58
28,77	16,31	364	0,58
27,35	11,45	312	0,63
26,34	10,8	235	0,48
25,88	11,42	218	0,53
Médias 30,37	12,80	434 $\pm$ 112	0,55



Tabela IV: Variação mensal de abril de 2001 a março de 2002 do índice gonadossomático médio (IGS)  $\pm$  desvio padrão em machos e fêmeas de *Odontostilbe* sp. e variação mensal dos dados abióticos do rio Ibicuí- Mirim, RS. n = número de exemplares amostrados mensalmente.

Meses	IGS médio $\pm$ desvio padrão		Pluviosidade (mm)	Fotoperíodo (minutos)	Temperatura (° C)
	machos (n)	fêmeas (n)			
Abril/2001	0,230 $\pm$ 0,050 (6)	3,833 $\pm$ 1,955 (30)	388,5	696	24,1
Mai/2001	0,353 $\pm$ 0,231 (20)	1,301 $\pm$ 0,480 (22)	196,8	641	17
Jun/2001	0,044 $\pm$ 0,015 (4)	0,501 $\pm$ 0,245 (20)	319,2	614	22
Jul/ 2001	0,249 $\pm$ 0,073 (9)	1,069 $\pm$ 0,196 (20)	162,8	617	17,7
Ago/2001	0,349 $\pm$ 0,119 (3)	1,250 $\pm$ 0,367 (17)	116,9	648	20,1
Set/2001	0,549 $\pm$ 0,105 (15)	7,635 $\pm$ 3,675 (20)	430,4	722	17,8
Out/2001	0,662 $\pm$ 0,154 (17)	6,205 $\pm$ 2,186 (22)	181,6	778	22,5
Nov/2001	0,402 $\pm$ 0,119 (20)	3,546 $\pm$ 2,827 (20)	174,5	836	22,9
Dez/2001	0,512 $\pm$ 0,128 (20)	5,136 $\pm$ 1,789 (20)	63,6	846	27
Jan/2002	0,382 $\pm$ 0,086 (20)	8,813 $\pm$ 2,069 (20)	84,8	817	26
Fev/2002	0,589 $\pm$ 0,086 (20)	9,611 $\pm$ 2,185 (20)	23,4	808	24
Mar/2002	0,319 $\pm$ 0,137 (22)	2,878 $\pm$ 2,184 (22)	342,6	753	22,5

Tabela V: Correlação entre IGS médio mensal de machos e fêmeas de *Odontostilbe* sp. e os dados abióticos (pluviosidade, temperatura e fotoperíodo).

Índice gonadossomático e dados abióticos		r	p
IGS x pluviosidade	Machos	-0,3566	0,2551
	Fêmeas	-0,2937	0,3541
IGS x temperatura	Machos	0,2242	0,4837
	Fêmeas	0,5604	0,0581
IGS x fotoperíodo	Machos	0,6783	0,0153*
	Fêmeas	0,7692	0,0034*

\* valores considerados significativos ( $p < 0,05$ )

Tabela VI: Comprimento padrão (CP), índice gonadossomático (IGS) e fecundidade absoluta (FA) e fecundidade relativa (FR) de 26 fêmeas de *Odontostilbe* sp. amostradas para o estimar as fecundidades. Para a fecundidade absoluta é fornecida a média  $\pm$  desvio padrão.

Primeiro período reprodutivo				Segundo período reprodutivo			
CP	IGS	FA	FR	CP	IGS	FA	FR
42,25	8,96	767	0,49	42,48	8,45	942	0,75
40,86	11,25	1036	0,92	39,63	9,99	667	0,64
40,53	10,78	829	0,74	39	16,56	1390	1,04
39,84	12,79	707	0,58	38,57	15,11	1240	1,24
39,56	11,12	567	0,60	38,03	11,68	1061	1,00
39,45	16,20	1074	1,06	37,71	14,35	967	1,05
38,22	9,77	627	0,63	36,54	12,66	1056	1,00
38,02	12,66	1067	1,11	36,49	10,84	858	0,86
37,7	9,0	337	0,63	35,77	12,09	709	0,85
37,21	10,37	582	0,64	35,24	11,54	735	0,90
36,87	12,69	647	0,76	34,9	10,84	791	0,90
36,81	6,50	550	0,64	31,92	10,03	402	0,60
36,73	9,80	923	0,63	31,5	7,71	470	0,70
Médias 38,77	10,71	722 $\pm$ 179	0,71	36,75	11,62	868 $\pm$ 222	0,89

Tabela VII- Dados comparativos das fecundidades absolutas e relativas de glandulocaudíneos e queirodontíneos inseminados e queirodontíneos de fecundação externa.

Espécies	Fonte de informação	Fecundidade absoluta (n° ovócitos)	Fecundidade relativa (ovócitos p/ mg de peso)
Glandulocaudíneos			
<i>Mimagoniates microlepis</i>	Azevedo, 2000	109	0,27
<i>Pseudocorynopoma doriae</i>	Melo, 1997	979	0,34
<i>Mimagoniates rheocharis</i>	Azevedo, 2000	421	0,35
<i>Diapoma speculiferum</i>	Azevedo <i>et al.</i> , 2000	491	0,41
Queirodontíneo inseminado			
<i>Compsura heterura</i>		434	0,55
Queirodontíneos c/ fecund. externa			
<i>Cheirodon ibicuihensis</i>	Oliveira <i>et al.</i> , 2002	513	0,5
<i>Serrapinnus calliurus</i>	Gelain <i>et al.</i> , 1999	426	0,61
<i>Odontostilbe pequirá</i>		722/ 868	0,71 / 0,89
<i>Serrapinnus piaba</i>	Silvano <i>et al.</i> , ms	441	1,45