

ANÁLISE MORFOLÓGICA DO DESENVOLVIMENTO OVOCITÁRIO DE PIRACANJUBA, *Brycon orbignyanus*, DURANTE O CICLO REPRODUTIVO*

[Morphological analysis of oocyte development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, during the reproductive cycle]

Luciana Nakaghi GANECO¹, Laura Satiko Okada NAKAGHI^{2,3}, Elisabeth Criscuolo URBINATI², Redelvin DUMONT NETO¹, Lucia Helena VASQUES¹

¹ Pós-graduando em Aqüicultura (CAUNESP)

² Professor Doutor – Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP e Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP)

³ Endereço/Address: Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP e Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Rod. Prof. Paulo Donato Castellane, km 5 – CEP 14884-900 – Jaboticabal-SP.
e-mail: laurankg@fcav.unesp.br

* Parte do Projeto de Iniciação Científica financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Proc. # 97/13862-6

RESUMO

As alterações morfológicas dos ovários de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), durante o ciclo reprodutivo foram estudadas. Exemplos adultos foram capturados a cada 2 meses, entre 1998 e 2000 e porções de seus ovários foram processadas para análise sob microscopia de luz. Observaram-se seis fases de células nos ovários de piracanjuba: Cromatina-núcleo (fase I), Perinucleolar (fase II), Alvéolo-cortical (fase III), Vitelogênico (fase IV), Pós-vitelogênico (fase V) e Atrésico (fase VI). As alterações morfológicas nos ovários ocorreram de forma cíclica, em 4 estádios de desenvolvimento: Repouso, Maturação Inicial, Maturação Avançada e Regressão, sendo os meses de dezembro a janeiro (final da primavera e início do verão), a época indicada para práticas de reprodução induzida nesta espécie.

Palavras-chave: *Brycon orbignyanus*, morfologia, ovário, ovogênese, peixe

ABSTRACT

In the present work the oogenesis of *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) during the reproductive cycle was studied. Adult females were randomly caught at each two months. Fragments of the ovaries were processed for light microscopy. During the whole reproductive cycle, six types of oocyte were observed: chromatin-nucleolus (phase I), perinucleolar (II), alveolus-cortical (III), vitellogenic (IV), post vitellogenic (V) and atresic (VI). The morphological changes detected in the ovaries occurred in a cyclic way, and can be described in four stages of development of the gonad: Rest, Initial Maturation, Maturation and Regression. Between December and January (end of spring and beginning of summer) occurs the maturation process.

Key words: *Brycon orbignyanus*, morphology, ovary, oogenesis, fish

Introdução

A produção de peixes do gênero *Brycon* vem se destacando na piscicultura nacional, já que várias espécies têm apresentado excelentes características para criação. A espécie *Brycon orbignyanus*, proveniente da Bacia do Paraná, onde é vulgarmente conhecida como piracanjuba, encontra-se com uma população muito reduzida em virtude da construção de um grande número de barragens hidrelétricas, que impedem a sua migração reprodutiva, e também do desmatamento ciliar que reduz a disponibilidade da sua alimentação natural, o que se agrava ainda mais com a deterioração da qualidade da água devido à poluição (PAIVA, 1982).

Esta espécie possui hábito alimentar onívoro e, assim como outros briconíneos, realiza piracema nos meses chuvosos (CASTAGNOLLI, 1992). Sua criação tem despertado grande interesse não só por sua carne de excelente qualidade, sendo por isso considerada um dos mais saborosos peixes de água doce, mas também por seu comportamento agressivo quando fisgado o que o torna muito apreciado em pescas esportivas, além de possuir um rápido crescimento, facilidade de cultivo na fase de engorda e excelente aceitação comercial (THORMAHLEN DE GIL, 1946).

Com o crescente interesse pela criação de briconíneos, há necessidade de se obterem, cada vez mais, informações sobre sua biologia, nutrição, manejo e, principalmente, reprodução. Assim, considerando

esses fatos e a falta de dados morfológicos de ovários de piracanjuba, o objetivo deste estudo foi conhecer a ovogênese nos vários estádios do ciclo reprodutivo, por meio de análises histológicas e morfométricas, bem como permitir a definição da época provável para a realização dos trabalhos de reprodução induzida.

Material e Métodos

Fêmeas adultas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* ($1126,62 \pm 409,38$ g e $46,17 \pm 4,28$ cm) foram capturadas, aleatoriamente, a cada dois meses. As coletas foram realizadas na Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental de Volta Grande – Conceição das Alagoas – Minas Gerais (CEMIG – Centrais Elétricas de Minas Gerais) e no Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP) entre 1998 e 2000. Os peixes foram anestesiados com Benzocaína (1 g/10 ml álcool + 15 L água) e, em seguida, pesados e medidos. Uma incisão ventral ampla foi feita em cada exemplar para observação macroscópica das características dos ovários, que após, foram retiradas e pesadas para o cálculo de IGS:

$$\text{IGS} = \frac{\text{Peso da gônada}}{\text{Peso corporal}} \times 100$$

Para estudo sob microscopia de luz, amostras de três porções dos ovários (cranial, medial e caudal) foram fixadas em líquido de Bouin, por 24 horas e processadas rotineiramente para inclusão em parafina. A microtomia foi feita a uma espessura de 5 mm e a coloração dos cortes, segundo as técnicas de Hematoxilina - Eosina. Foi confeccionada uma lâmina para cada porção do ovário. Estas foram observadas e fotomicrografadas em fotomicroscópio AXIOSKOP-ZEISS. Com auxílio de um Analisador de Imagens (Videoplan – ZEISS), foi realizada a morfometria dos ovócitos (30 ovócitos de cada fase por lâmina). Apenas os que apresentaram o núcleo seccionado foram medidos.

Resultados

Anatomia do ovário da piracanjuba, *B. orbignyanus*

Os ovários da piracanjuba foram identificados como órgãos pares, geralmente de igual tamanho. Apresentavam forma ovóide alongada, com a extremidade anterior romba e a posterior adelgada, formando um oviduto que desemboca no poro urogenital, posteriormente ao ânus. Localizavam-se na cavidade abdominal, presos à linha sagital mediana por um curto mesovário, dorsalmente ao intestino. O tamanho, peso e coloração variaram de acordo com o estágio de desenvolvimento (Figura 1).

Histologia do ovário da piracanjuba *B. orbignyanus*

Microscopicamente, o ovário estava envolvido por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, que constitui a túnica ovariana ou albugínea. Este tecido conjuntivo emite projeções para o interior do órgão, formando septos ou lamelas ovulíferas que sustentam as células germinativas em diferentes fases do desenvolvimento.

As lamelas apresentaram grandes variações de tamanho, dependendo da fase do ciclo reprodutivo em que o peixe se encontrava. Observaram-se ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento, circundados por envoltórios celulares formando folículos. Estes também eram envolvidos por delicadas membranas de tecido conjuntivo, que partiam do revestimento da lamela.

As células encontradas foram denominadas ovócitos: Cromatina-núcleo (fase I), Perinucleolar (fase II), Alvéolo-cortical (fase III), Vitelogênico (fase IV), Pós-vitelogênico (fase V) e Atrésico (fase VI) (Figura 2).

Os valores médios do diâmetro dos ovócitos são mostrados na figura 3.

Ovócitos cromatina-núcleo (fase I), foram as menores células encontradas. Apresentavam núcleo central com nucléolo único, excêntrico e basófilo. Geralmente mostravam-se agrupados em ninhos.

Nos ovócitos perinucleolares (fase II), o núcleo era central, com vários nucléolos periféricos. O citoplasma possuía contorno anguloso e apresentava afinidade tintorial dependendo do seu tamanho (basofilia). Foram observados em todas as fases de desenvolvimento.

Os ovócitos alvéolo-corticais (fase III), mostraram núcleo central, citoplasma com afinidade tintorial mudando de basófilo para acidófilo na periferia, presença de membrana pelúcida e células foliculares. Observou-se a disposição periférica e evidente de estruturas claras com fina granulação, denominadas alvéolos corticais.

Os ovócitos vitelogênicos (fase IV), apresentaram o envoltório folicular e delgada camada de alvéolos corticais. Os grânulos de vitelo eram quase sempre de forma esférica, porém de tamanhos variados e núcleo acidófilo e central.

Os ovócitos pós-vitelogênicos (fase V), caracterizaram-se por seu núcleo excêntrico, acidófilo, sem contorno nítido e nucléolos evidentes. Salientou-se nesta espécie a zona radiata espessa e a camada granulosa delgada.

Na piracanjuba foram observados ovócitos atrésicos (fase VI), que perderam sua forma arredondada típica e apresentaram zona radiata fragmentada e grânulos de vitelo desorganizados.

Constatou-se, em exemplares coletados na

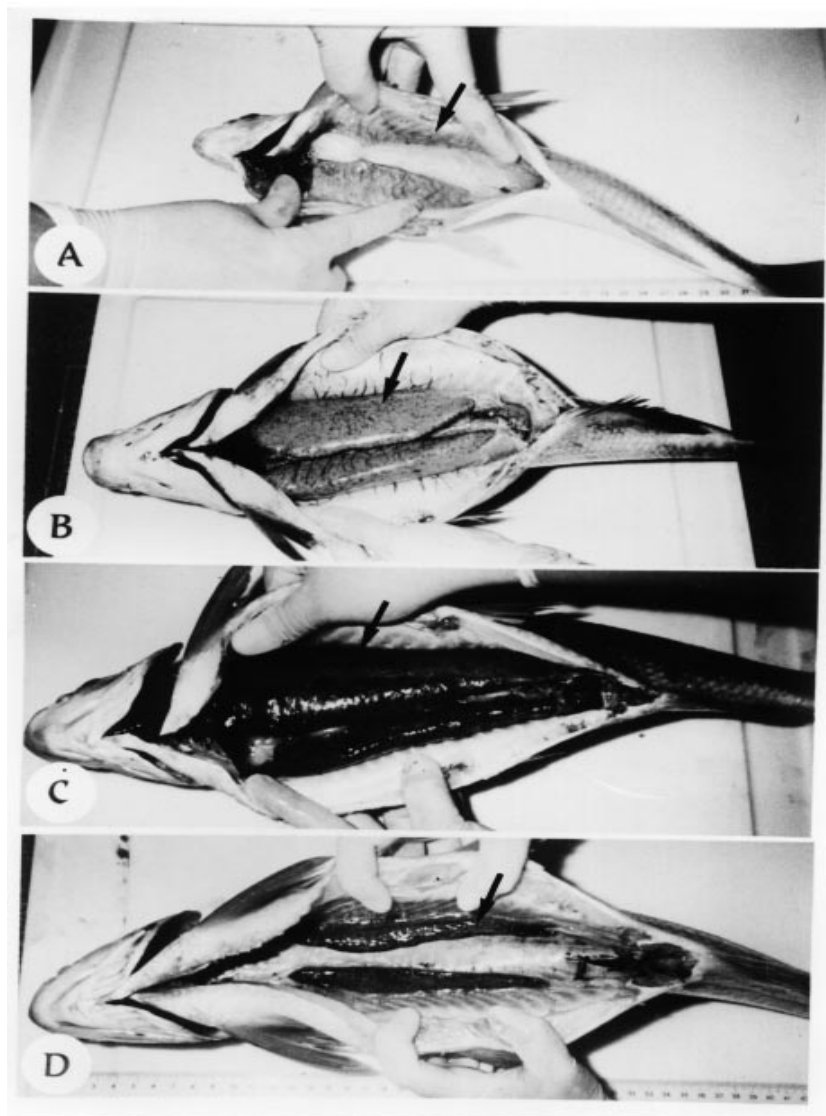


Figura 1. Exemplares de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, com ovários (seta) em estádios de: A) Repouso; B) Maturação Inicial; C) Maturação Avançada; D) Regressão

primavera e verão, a presença do aparelho micropilar (Figura 4) em ovócitos pós-vitelogênicos (proveniente de corte de ovário) de fêmeas aptas à desova induzida.

No ovócito pós-vitelogênico, o aparelho micropilar apresentou-se como uma região côncava no córion ou zona radiata que se afunilava em direção à membrana plasmática. Nesta fase observou-se uma célula hipertrofiada recobrimdo esta concavidade, que se denomina célula micropilar, por vedar o poro ou canal micropilar.

Determinação dos estádios do ciclo reprodutivo da piracanjuba, *B. orbignyanus*

Analizando-se as características macroscópicas e microscópicas do ovário de piracanjuba e comparando-as com o Índice Gônado-somático (IGS), observaram-se 4 estádios de desenvolvimento gonadal: Repouso, Maturação Inicial, Maturação Avançada e Regressão.

Repouso

Os ovários apresentaram-se com coloração rósea a alaranjada, pouco desenvolvidos, com pequena vascularização e sem ovócitos perceptíveis. Sob microscopia de luz, observaram-se lamelas ovulíferas e predomínio de ovócitos perinucleolares (Figura 5 A). Este estágio foi observado nos peixes coletados no período de junho a agosto, com valores de IGS entre 0,26 e 0,83 %.

Maturação inicial

Neste estágio, os ovários eram maiores que no anterior, com coloração verde-azulada e ocupando aproximadamente 2/3 da cavidade abdominal. O IGS atingiu valores entre 7,59 e 15,05 %. Os vasos sanguíneos e ovócitos estavam visíveis a olho nu. Histologicamente, percebeu-se uma maior incidência de ovócitos vitelogênicos de tamanhos variados,

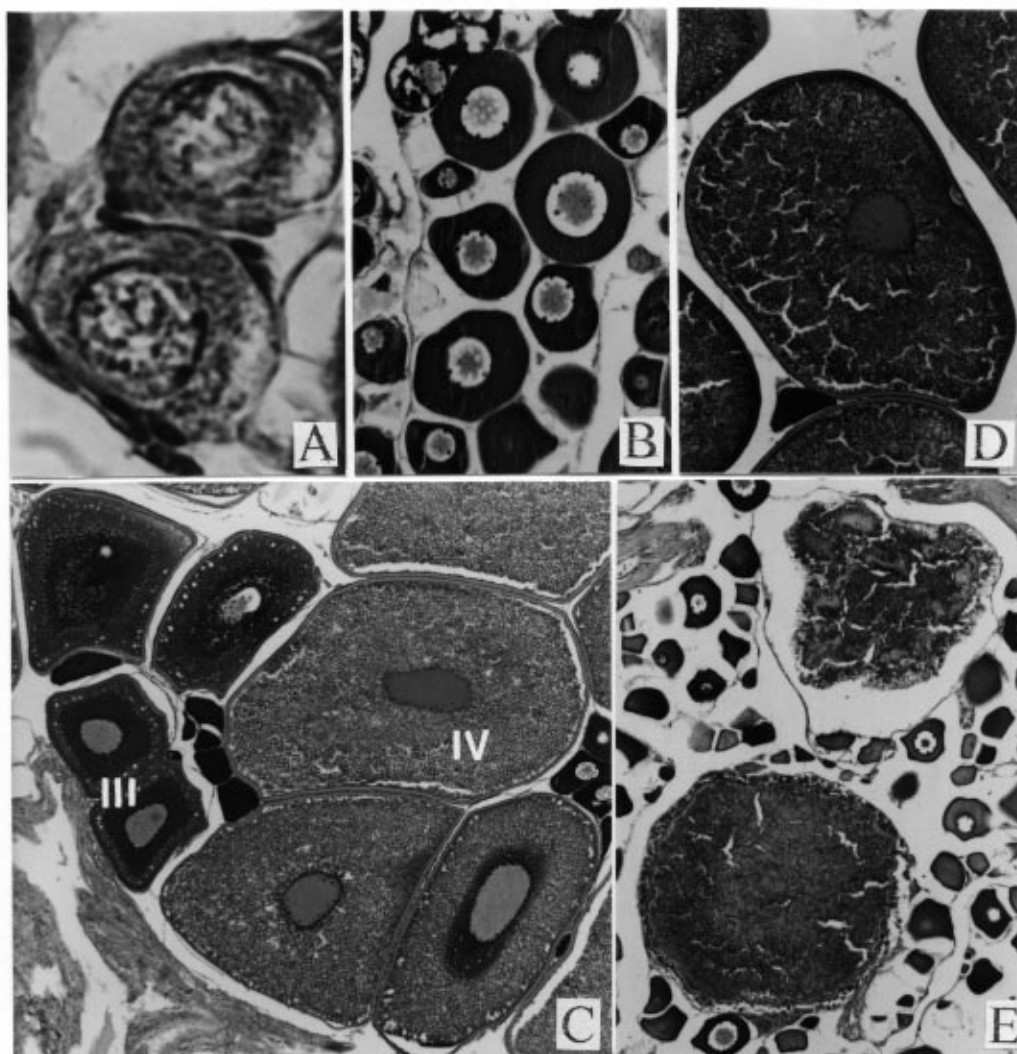


Figura 2. Fotomicrografias de cortes de ovário de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, apresentando: A) Ovócito cromatina-núcléolo – A = 760 X; B) Ovócitos Perinucleolares – A = 76 X; C) Ovócitos Alvéolo-cortical (III) e Ovócito Vitelogênico (IV) – A = 38 X; D) Ovócito Pós-vitelogênico – A = 38 X; E) Ovócitos atrésicos – A = 38 X. Coloração: Hematoxilina-Eosina

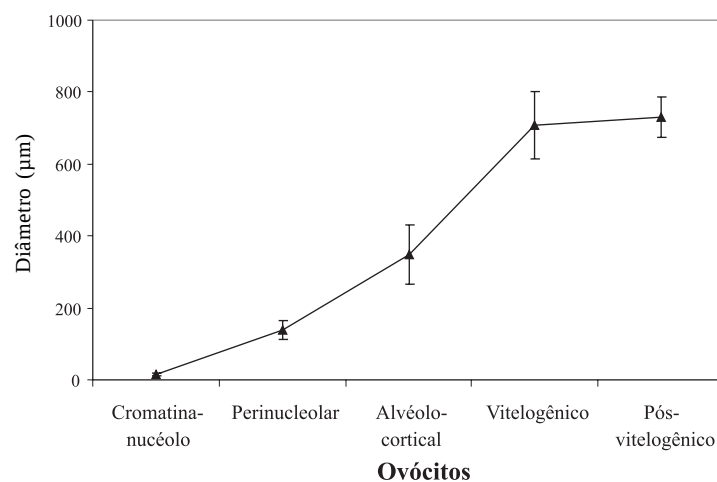


Figura 3. Valores médios do diâmetro (µm) dos ovócitos em diferentes fases de maturação de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*

perinucleolares e alvéolo-corticais, além de alguns atrésicos (Figura 5 B). A zona radiata mostrou-se bastante espessa especialmente nas porções cranial e medial do ovário. Este estágio foi observado em exemplares coletados entre setembro e novembro.

Maturação Avançada

Os ovários apresentaram-se bastante volumosos, ocupando quase toda a cavidade abdominal, com coloração verde oliva a azul petróleo e grande vascularização. A análise microscópica revelou lamelas ovulíferas completamente preenchidas por ovócitos grandes em vitelogênese e pós-vitelogênese (Figura 5 C). Havia presença de reduzido número de ovócitos alvéolo-corticais e cromatina-nucléolo. Em alguns ovócitos pós-vitelogênicos observou-se vesícula germinal sub-periférica em direção à micrópila. Esta fase ocorreu de dezembro a fevereiro, com IGS atingindo níveis máximos em janeiro (10,29 a 14,00 %).

Regressão

Os ovários apresentaram-se flácidos, ocupando cerca de metade da cavidade celomática, com intensa vascularização, coloração esverdeada e ovócitos perceptíveis a olho nu. Havia presença de muitos ovócitos perinucleolares e alguns ovócitos atrésicos nas lamelas ovulíferas. (Figura 5 D). Ocorreu em exemplares coletados de março a maio, com valores

de IGS novamente baixos (0,68 a 1,06 %). Após este estágio, observou-se aumento do número de ovócitos perinucleolares e cromatina-nucléolo, retornando assim ao estágio de repouso.

Neste trabalho não foi utilizado o termo “imaturo”, por considerar-se que todos os exemplares eram adultos. O estágio “esgotado” também não pôde ser observado por se tratar de animais mantidos em cativeiro que, portanto, não desovaram.

Discussão

Os ovários da piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, podem ser classificados como do tipo “cistovariano”, de acordo com o critério proposto por HOAR (1969) e HIBIYA (1982), em que o lume ovariano está em continuidade com o oviduto.

O desenvolvimento ovocitário dos teleosteos tem sido dividido em fases, para melhor compreensão das alterações por que passam as células germinativas. Na piracanjuba em cativeiro, foram caracterizadas seis fases: cromatina-nucléolo (I), perinucleolar (II), alvéolo-cortical (III), vitelogênico (IV), pós-vitelogênico (V) e atrésicos (VI). CHAVES e VAZZOLER (1984), pesquisando o gênero *Semaprochilodus*, e LIMA *et al.* (1991), trabalhando com *Piaractus mesopotamicus* mantidos em cativeiro, agruparam as células germinativas em cinco fases, com denominações diferentes. ROMAGOSA (1998), em *Brycon cephalus*, dividiu a ovogênese em 2 etapas

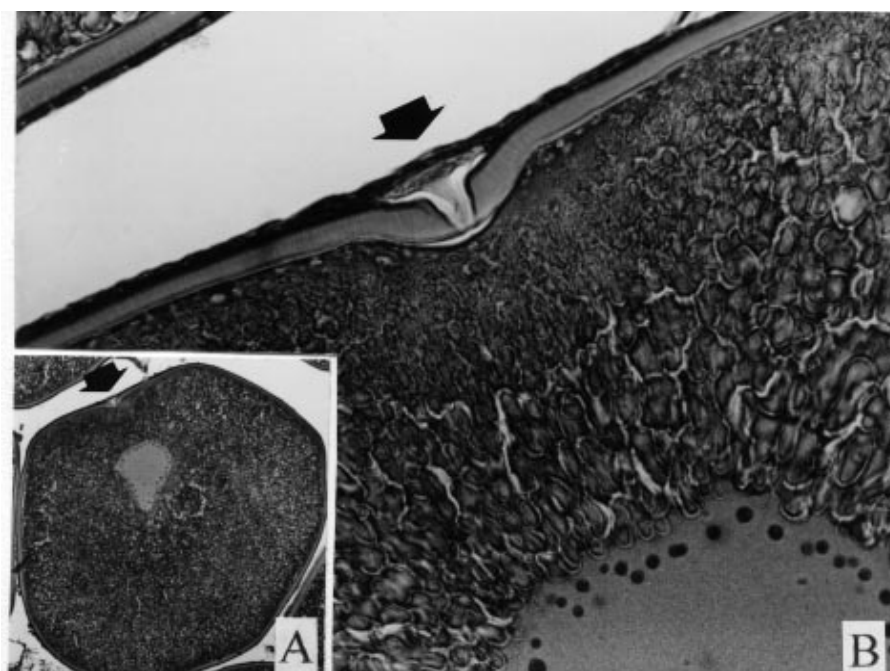


Figura 4. Corte de ovário de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, evidenciando: A) ovócito com presença de micrópila (seta) – A. = 38 X; B) detalhes da região da micrópila (seta) – A = 304 X. Coloração: Hematoxilina-Eosina

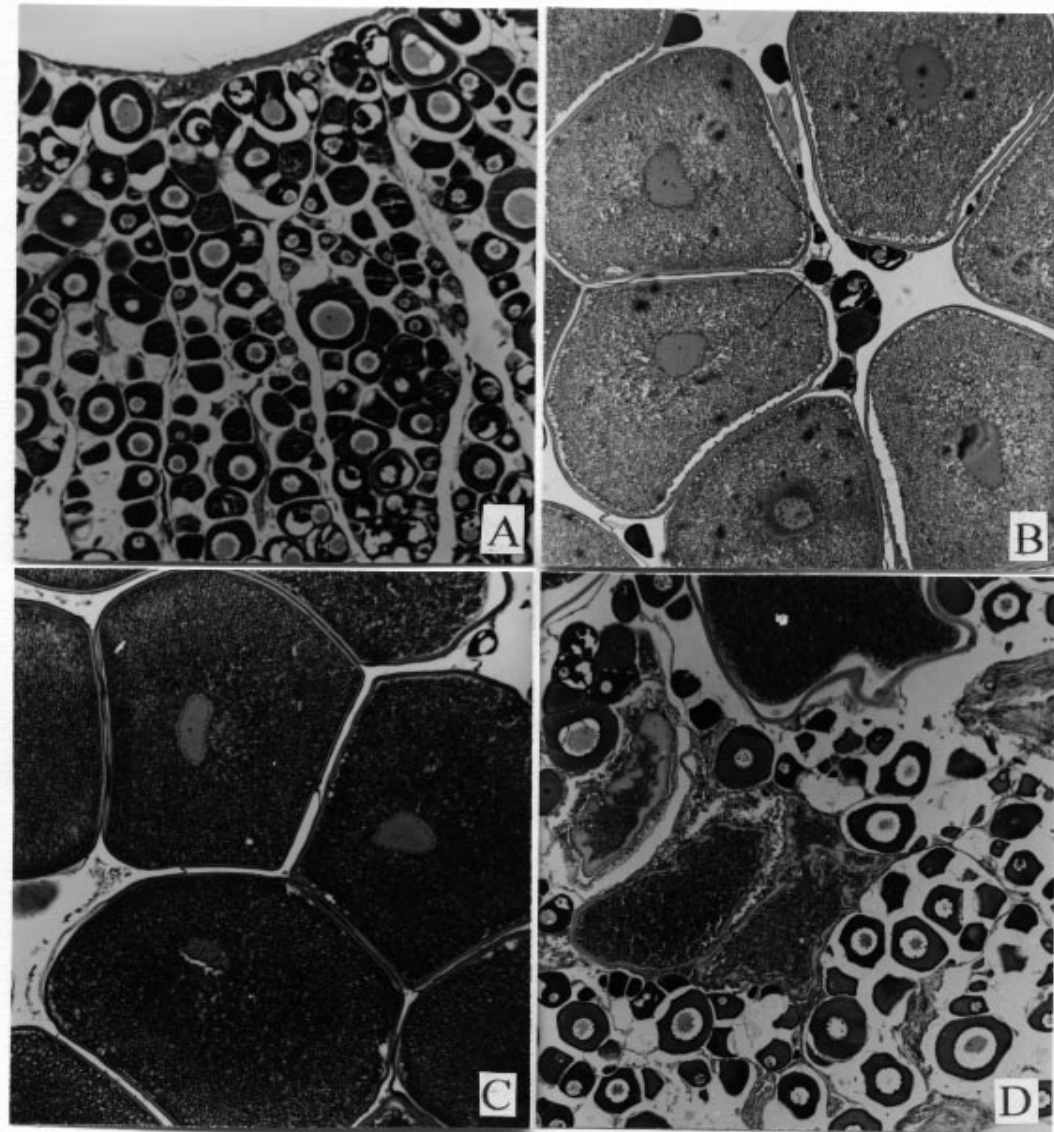


Figura 5. Cortes de ovário de piracanjuba, *Brycon orbignyana*, em vários estádios de desenvolvimento: A) Repouso – A = 38 X; B) Maturação Inicial – A = 38 X; C) Maturação Avançada – A = 38 X; D) Regressão – A = 38 X. Coloração: Hematoxilina-Eosina

de desenvolvimento: crescimento primário (fase I, cromatina-núcleo, e II, perinucleolar) e crescimento secundário (fase III, alvéolo-cortical; IV, vitelogênese, e V, maturação final).

Os ovócitos na fase II (perinucleolar) podem ser distinguidos daqueles da fase I por seus diversos tamanhos (NAGAHAMA, 1983), formas geralmente angulares, núcleos grandes, nucléolos periféricos e citoplasma basófilo, sendo semelhantes aos descritos por LIMA *et al.* (1991), ROMAGOSA *et al.* (1993) e NAKAGHI (1996). Na piracanjuba, no final da fase perinucleolar, os ovócitos mostraram-se semelhantes à descrição citada. Neles podem ser encontrados os

corpúsculos de Balbiani, ou núcleo vitelínico, que pode apresentar-se no citoplasma do ovócito como uma estrutura basófila de contorno circular e homogênea. Estas células, devido ao fato de ficarem reservadas para maturação no ano seguinte, são denominadas “estoque de reserva”. O mesmo foi constatado por CHAVES e VAZZOLER (1984). Na espécie estudada, os ovócitos perinucleolares ocorreram durante todo o ciclo reprodutivo.

A fase III foi caracterizada pela presença de estruturas claras denominadas alvéolos corticais. Tais estruturas são vesículas de tamanhos variados e limitados por membrana. Sabe-se que estas se fundem

com a membrana plasmática, liberando seu conteúdo no espaço perivitelínico, no momento da fertilização e criam uma barreira à polispermia em peixes (Yamamoto, 1956, *apud* ROMAGOSA *et al.*, 1993; WALLACE e SELMAN, 1981).

Os ovócitos vitelogênicos (IV) tiveram seu tamanho bastante aumentado à medida que neles era formado o vitelo. O citoplasma tornou-se acidófilo e o núcleo deslocou-se para a periferia gradativamente.

Os ovócitos classificados como pós-vitelogênicos apresentaram todo o citoplasma preenchido por partículas de vitelo, uma fina camada de alvéolos corticais dispostos periféricamente e migração da vesícula germinal para a periferia da célula, próximo ao polo animal (BEGOVAC e WALLACE, 1988). Esta denominação foi feita considerando-se o término da síntese de vitelo.

Durante o processo de ovogênese de *B. orbignyanus* foram observados ovócitos atrésicos em reabsorção somente no estágio de regressão. Para *Brycon cephalus* na natureza, ZANIBONI FILHO e KAWAKAMI DE RESENDE (1988) identificaram ovócitos atrésicos em reabsorção nas fases finais de maturação, enquanto ROMAGOSA (1998) encontrou-os em todas as fases do desenvolvimento ovariano quando mantidos em cativeiro. ZAIDEN (2000), em *Brycon hilarii*, notou, no estágio de regressão, ocorrência de ovócitos em reabsorção ou em degeneração, em diferentes fases de atresia.

Ovócitos atrésicos são de ocorrência relativamente comum em ovários de teleósteos (GURAYA; KAUR; SAXENA, 1975; NAGAHAMA, 1983). A degeneração dos ovócitos, ou atresia folicular, é um processo que pode ocorrer antes e após a desova, em ambientes naturais ou artificiais. Ocorre normalmente antes da desova nos ovócitos que não alcançaram a maturidade e, após a desova, naqueles que deixaram de ser eliminados (HOAR, 1969).

Em ovócitos vitelogênicos (IV) e pós-vitelogênicos (V) de piracanjuba observou-se a presença da micrópila. RICARDO *et al.* (1996) verificaram micrópilas sob microscopia de luz a partir de ovócitos III, sendo mais frequentes em ovócitos IV.

A micrópila caracteriza-se como uma pequena abertura localizada no polo animal da célula, através da qual o espermatozoíde penetra no ovócito maduro (LAALE, 1980). O aparelho micropilar apresenta-se totalmente desenvolvido em ovócitos maduros (RICARDO *et al.*, 1996). Durante a ovogênese, a célula micropilar atua como tampão da micrópila, apresentando também características ultraestruturais de célula secretora (NAGAHAMA, 1983). A micrópila torna-se livre da célula

micropilar somente após a ovulação (GURAYA, 1986).

A morfologia da micrópila varia em diferentes espécies de peixes. RICARDO *et al.* (1996) estudando teleósteos neotropicais de água doce, por meio de microscopia de luz, caracterizaram 4 tipos de micrópilas. Considerando esses dados, verificou-se que a micrópila de piracanjuba corresponde ao tipo 2, isto é, tem forma de funil, vestíbulo raso e longo canal micropilar, também descrita em salmoníneos por GROOT & ALDERDICE (1985), *apud* RICARDO *et al.* (1996).

Em piracanjuba observaram-se 4 estádios de maturação: Repouso, Maturação Inicial, Maturação Avançada e Regressão. Em *Brycon cephalus*, ZANIBONI FILHO e KAWAKAMI DE RESENDE (1988) consideram 5 estádios: imaturo, maturação, maduro, esvaziado e repouso, para exemplares capturados na natureza. Para animais mantidos em cativeiro, ROMAGOSA (1998) verificou apenas os estádios de repouso, maturação, maduro e regressão. ZAIDEN (2000), para *Brycon hilarii*, considerou repouso, maturação I, maturação II, maduro e regressão.

Os diferentes valores de Índice Gônado-somático (IGS) para piracanjuba mostram que houve consideráveis alterações estruturais dos ovários, durante o ciclo reprodutivo. Observou-se que no inverno o IGS foi baixo, crescendo significativamente no verão, com o início da maturação do ovário.

O IGS tem sido amplamente utilizado para auxiliar na identificação dos estádios de desenvolvimento gonadal, sendo considerado por muitos autores (GURAYA; KAUR; SAXENA, 1975 e ZAIDEN, 2000). Entretanto, somente o IGS e/ou análise macroscópica não são suficientes para determinação dos estádios de maturação das gônadas, pois não permitem uma distinção clara de estádios de maturação sucessivos, tendo as análises microscópicas importância fundamental na identificação exata.

De acordo com os resultados obtidos, a época para realização da reprodução induzida de piracanjuba mantida em cativeiro, foi dezembro/janeiro, quando o IGS se mostrou alto e, microscopicamente, os ovócitos estavam aptos à reprodução. ZANIBONI FILHO e KAWAKAMI DE RESENDE (1988) relataram que o período de desova para *Brycon cephalus* em seu habitat natural é dezembro a janeiro. ROMAGOSA (1998), para a mesma espécie mantida em cativeiro na região do Vale do Ribeira, observou redução do período: fins de dezembro a início de janeiro. ZAIDEN (2000) verificou, para exemplares de *Brycon hilarii*, criados na região norte de São Paulo, um período de desova entre novembro e dezembro.

Conclusão

- De acordo com as características estruturais dos ovários observadas neste estudo, a época recomendada para realização da reprodução induzida de piracanjuba mantida em cativeiro é o final da primavera e início do verão (dezembro/janeiro).
- Analisando-se os aspectos macro e microscópicos dos ovários de exemplares adultos, foi possível elaborar uma escala de maturação com 4 estádios: Repouso, Maturação Inicial, Maturação Avançada e Regressão.
- No processo de maturação dos ovários foram encontrados seis tipos de ovócito: Cromatina-núcleo (fase I), Perinucleolar (fase II), Alvéolo-cortical (fase III), Vitelogênico (fase IV), Pós-vitelogênico (fase V) e Atrésico (fase VI).

Agradecimentos

Ao Histotécnico Orandi Mateus, do Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV-UNESP Jaboticabal.

Referências Bibliográficas

- BEGOVAR, P. C. e WALLACE, R. A. 1988 Stages of oocyte in pipefish, *Syngnatus scovelli*. *J. Morphol.*, 197: 353-369.
- CASTAGNOLLI, N. 1992 Criação de peixes de água doce. Jaboticabal, FUNEP. 189 p.
- CHAVES, P. T. C. e VAZZOLER, A. E. A. M. 1984 Aspectos biológicos de peixes amazônicos. II. Anatomia microscópica de ovários, escala de maturidade e tipo de desova das espécies do gênero *Semaprochilodus*. *Revta. Brasil. Biol.*, 44 (3): 347-359.
- GURAYA, S. S. 1986 The cell and molecular biology of fish oogenesis. Basel, New York: Karger. 213 p. (Monographs in developmental biology, v. 18).
- _____; KAUR, R.; SAXENA, P. K. 1975 Morphology of ovarian changes during the reproductive cycle of the fish, *Mystus tengara* (Ham.). *Acta Anat.*, 91: 222-260.
- HIBIYA, T. 1982 *An atlas of fish histology: normal and pathological features*. Tokyo: College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, 147 p.
- HOAR, W. S. 1969 Reproduction. In: HOAR, W. and RANDALL, D. J. *Fish physiology*. London: Academic Press, 3. p.1-72.
- LAALE, H. W. 1980 The perivillelline space and egg envelopes of bony fishes: a review. *Copeia*, 2: 210-226.
- LIMA, R. L. V. A.; BERNARDINO, G.; VAL-SELLA, M. V.; FAVA DE MORAES, F.; SCHEMY, R. A.; BORELLA, M. I. 1991 Tecido germinativo ovariano e ciclo reprodutivo de pacus (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) mantidos em cativeiro. *Bol. Tec. CEPTA*, 4 (1): 1-46.
- NAGAHAMA, Y. 1983 The functional morphology of teleost gonads. In: HOAR, W.; RANDALL, D. J.; DONALDSON, E. M. *Fish physiology: Reproduction*. London: Academic Press, 9 Part A. p. 223-275.
- NAKAGHI, L. S. O. 1996 *Estudos estruturais e ultra-estruturais das gônadas do peixe híbrido tambacu*. Ribeirão Preto. 108p. (Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP).
- PAIVA, M.P. 1982 *Grandes Represas do Brasil*. Brasília: Editera. 292p.
- RICARDO, M. C. P.; AGUIAR, C. A.; RIZZO, E., BAZZOLI, N. 1996 Morfologia da micrópila e da célula micropilar em teleósteos neotropicais de água doce. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 48 (Supl. 1): 17-24.
- ROMAGOSA, E. 1998 *Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultraestrutura) e indução da reprodução do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro, Vale do Ribeira, São Paulo*. São Carlos, 218 p. (Tese de Doutorado. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFSCar)
- _____; NARAHARA, M. Y.; GODINHO, H. M.; PAIVA, P.; BRAGA, F. M. S. 1993 Mudanças morfológicas dos ovários de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), em condições de confinamento. *B. Inst. Pesca*, 20 (único): 67-80.
- THORMAHLEN DE GIL, A. L. 1946 Una contribución al estudio del pirapita (*Brycon orbignyanus*). *Rev. Mus. La Plata, Nova Ser. Zool.*, 5: 351-441.
- WALLACE, R. A. e SELMAN, K. 1981 Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.*, 21: 325-343.
- ZAIDEN, S. F. 2000 *Morfologia gonadal e metabolismo energético da piraputanga *Brycon hilarii* (Cuvier e Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae), em cativeiro, durante o ciclo reprodutivo anual*. Jaboticabal, 152 p. (Tese de Doutorado. Centro de Aqüicultura, UNESP).
- ZANIBONI-FILHO, E. e KAWAKAMI DE RESENDE, E. 1988 Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 48 (4): 833-44.