

Aspectos morfológicos e citoquímicos
da ovogênese de *Hypostomus cf. tietensis* (Loricariidae)
do Lago Igapó I (Londrina, PR, Brasil)

Morphological and cytochemical aspects
of oogenesis of *Hypostomus cf. tietensis* (Loricariidae)
of Igapó I Lake (Londrina, PR, Brazil)

LUÍS FERNANDO FÁVARO¹
PAULO DE TARSO CUNHA CHAVES²

O estudo da reprodução em peixes é uma área de considerável importância na ictiologia, permitindo a exploração de forma organizada sem prejudicar as espécies e o ambiente.

Hypostomus tietensis (Ihering, 1905) é um peixe de água doce detritívoro, seus ovos são aderentes e é de importância para o ecossistema pelo fato de promover a circulação da matéria orgânica depositada no substrato. Conhecer o desenvolvimento das suas células germinativas auxilia no entendimento do seu mecanismo reprodutivo. O número de fases do desenvolvimento ovocitário pode variar de acordo com a espécie e também com os critérios utilizados pelos autores. Assim, GODINHO *et al.* (1974); AGOSTINHO, NARAHARA & GODINHO (1982); ISAAC-NAHUM, VAZZOLER & ZANETTI-PRADO (1983); CHAVES

¹Departamento de Biologia Celular, SCB, Universidade Federal do Paraná. C. Postal 19.031 — CEP 81531-990 Curitiba, PR, Brasil. *E-mail*: lufavaro@bio.ufpr.br ²Departamento de Zoologia, SCB, Universidade Federal do Paraná. C. Postal 19.020 — CEP 81531-990, Curitiba, PR, Brasil.

& VAZZOLER (1984), BARBIERI & BARBIERI (1985); LOPES *et. al* (1987); CUSSAC & MAGGESE (1986); LIMA *et al.* (1986); ZANIBONI FILHO & RESENDE (1988); MATKOVIC & PISANÒ (1989); MENEZES & CARAMASCHI (1994); CHAVES (1989) e SILVA & ESPER (1991) utilizaram diferentes números de fases para descrever a ovogênese em diferentes espécies de peixes marinhos e de água doce.

A detecção das substâncias químicas presentes nas células pode ser de grande auxílio na determinação das fases de desenvolvimento dos folículos, bem como indicadores de seu papel no desenvolvimento embrionário. Trabalhos relacionando o desenvolvimento ovocitário com a citoquímica foram realizados por RAMADAN *et al.* (1979, 1987); GUTIÉRREZ, SARASQUETE & RODRIGUEZ (1985); MAYER, SHACKLEY & RYLAND (1988), NEVES *et al.* (1992), os quais demonstraram a presença de carboidratos nos constituintes dos folículos ovarianos. O presente estudo tem por objetivos descrever morfológicamente os folículos ovarianos, caracterizando as diferentes fases que constituem a ovogênese de *Hypostomus tietensis*, e detectar e localizar carboidratos neutros e ácidos (carboxilados e sulfatados) através de reações citoquímicas nas diferentes fases da ovogênese.

MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares de *Hypostomus cf. tietensis* do Lago Igapó I (Londrina, PR, Brasil) foram coletados mensalmente durante um ano (de março de 1989 a fevereiro de 1990) com a utilização de tarrafas de diferentes malhagens. Foram analisadas 88 fêmeas adultas. Os exemplares foram seccionados ventralmente para a exposição das gônadas, as quais foram retiradas, fixadas em Bouin por 18 horas e incluídas em parafina para a confecção de lâminas histológicas. Cortes de 7 µm de espessura foram corados com Hematoxilina-Eosina para a descrição morfológica dos folículos ovarianos baseado em VAZZOLER (1996). Para detecção de carboidratos utilizou-se: PAS (Ácido Periódico-Schiff); Azul de Alcian pH 2,5; Azul de Alcian pH 1,0 e a associação de PAS + Azul de Alcian pH 2,5. A reação com PAS detecta carboidratos neutros, Azul de Alcian pH 2,5 detecta carboidratos ácidos (carboxilados e sulfatados), Azul de Alcian pH 1,0 identifica carboidratos ácidos sulfatados e a associação do PAS + AA pH 2,5, detecta no mesmo

material carboidratos neutros e ácidos. Como controle para a reação do PAS foram realizados: acetilação e amilase salivar. Para a coloração do Azul de Alcian pH 1,0 e pH 2,5 foi utilizada como controle a metilação. As análises foram realizadas em microscópio de luz.

RESULTADOS

DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DOS FOLÍCULOS OVARIANOS

O folículo ovariano compreende ovócito, membrana vitelina e células foliculares. Durante o processo de maturação do folículo ovariano podem ser observadas mudanças na sua morfologia tanto quanto na sua constituição química, que caracteriza as cinco fases distintas no seu desenvolvimento que seguem.

Fase I — Nesta fase as células da linhagem gamética mostram-se com o núcleo bastante grande e claro. Possui um nucléolo único localizado centralmente e bastante basófilo. Citoplasma muito reduzido (Fig. 1a).

Fase II — Ovócitos apresentam-se aumentados e geralmente angulares. Núcleo central e cromatina com aspecto frouxo; geralmente apresenta mais que um nucléolo, situados na periferia. Citoplasma muito aumentado e intensamente basófilo. Próximo ao núcleo é evidenciada uma estrutura denominada de núcleo vitelino, que se cora fortemente pela Hematoxilina, diferenciando-se do citoplasma por apresentar região periférica sem afinidade pelos corantes. Externamente à membrana do ovócito estão presentes células pavimentosas denominadas de células foliculares (Fig. 1b).

Fase III — De acordo com a localização das vesículas citoplasmáticas dos ovócitos, esta fase foi dividida em 3 sub-fases: sub-fase III inicial, sub-fase III intermediária e sub-fase III final.

Sub-Fase III Inicial — Ovócitos apresentam-se angulares e fortemente basófilos como os da fase II, entretanto, não possuem o núcleo vitelínico. Caracterizam-se pela presença de vesículas, dispostas no citoplasma de forma desorganizada. As vesículas apresentam coloração negativa pela técnica HE. As células foliculares pavimentosas envolvem o ovócito (Fig. 1b).

Sub-Fase III Intermediária — Ovócitos perdem as angulações e mostram-se arredondados e aumentados com relação aos da sub-

fase e fases anteriores. O núcleo é central e contém um número maior de nucléolos de menor tamanho localizados na periferia. A basofilia do citoplasma diminui e as vesículas se dispõem no terço periférico do citoplasma. Surge a membrana vitelina, camada acelular delgada e com coloração acidófila para HE. Células foliculares podem se apresentar pavimentosas ou cúbicas (Fig. 1c).

Sub-Fase III Final — Ovócitos maiores com citoplasma menos basófilo. Núcleo acidófilo contém muitos nucléolos, ainda menores que nas fases e sub-fases anteriores. As vesículas citoplasmáticas se encontram mais periféricas. Membrana vitelina mostra-se mais espessa e fortemente corada em rósea pela Eosina. Células foliculares apresentam-se cúbicas. (Fig. 1c).

Fase IV — Ovócitos aumentados, citoplasma com maior afinidade pela Eosina. O núcleo central, possui contorno irregular e os nucléolos se alojam na periferia.³ As vesículas ocupam toda a periferia do citoplasma e se apresentam maiores e em maior número que nas fases anteriores. A região periférica do citoplasma apresenta fraca basofilia. A porção central do citoplasma está ocupada por grânulos de vitelo e se cora fortemente pela Eosina.⁴ Membrana vitelina apresenta-se mais espessa e fortemente corada em róseo, podendo-se observar estrias transversais. Células foliculares são cúbicas ou cilíndricas (Fig. 1c).

Fase V — Os ovócitos mostram-se muito aumentados se comparados com as fases anteriores e também com grande afinidade pela Eosina. Citoplasma é praticamente ocupado pelos grânulos de vitelo, os quais parecem se fundir, deixando áreas com aspecto manchado. Na periferia do citoplasma pode-se observar poucas vesículas citoplasmáticas. A membrana vitelina mostra-se acidófila e menos espessa que na fase anterior. Células foliculares são cúbicas, podendo se apresentar cilíndricas em algumas áreas (Fig. 1d).

Os folículos atrésico e vazio não foram considerados como fases do desenvolvimento ovocitário e sim como estruturas derivadas do processo de ovogênese.

Folículo Atrésico - Nem todos os folículos ovarianos que iniciam o desenvolvimento serão liberados. Muitos ovócitos podem sofrer o processo de atresia, o qual consiste em estacionar o desenvolvimento folicular seguido de sua degeneração. Este processo ocorre geralmente

³ Pelo do ovócito apresentar um aumento em seu volume, torna-se difícil localizar o núcleo. ⁴ Através das análises microscópicas, observa-se que os grânulos de vitelo surgem na região central e, posteriormente, ocupam todo o citoplasma.

em folículos ovarianos desenvolvidos. Em *Hypostomus cf. tietensis*, inicialmente ocorre o desaparecimento da membrana vitelina seguido pela deformação dos grânulos de vitelo o que conseqüentemente leva a uma desorganização do folículo ovariano (Fig. 1e).

Folículo Vazio — Durante o desenvolvimento do folículo ovariano, células do tecido conjuntivo se organizam ao redor das células foliculares, originando as denominadas tecas. A membrana vitelina é liberada juntamente com o ovócito, deixando no interior do ovário o folículo vazio. O folículo vazio é caracterizado pela camada de células foliculares circundadas pela teca (tecido conjuntivo). O lúmen deixado pelo ovócito, na ovulação, é desfeito com a desorganização do folículo vazio (Fig. 1f).

DETECÇÃO DE CARBOIDRATOS NOS FOLÍCULOS OVARIANOS

Os carboidratos neutros foram demonstrados em todas as fases do desenvolvimento, exceto na fase I (Fig. 2a, 2b). Os carboidratos ácidos carboxilados foram demonstrados a partir da sub-fase III intermediária até a fase V (Fig. 2c, 2d), sendo que nesta última apresentou reação positiva somente nas células foliculares. Os carboidratos ácidos sulfatados foram observados a partir da sub-fase III intermediária até a fase IV (Fig. 2e).

Os resultados da detecção de carboidratos nos folículos ovarianos se encontram resumidos na tabela 1.

DISCUSSÃO

DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DOS FOLÍCULOS OVARIANOS

De acordo com WEST (1990), os estudos histológicos fornecem informações precisas sobre o estágio de desenvolvimento do ovócito. DIAS *et al.*, (1998), trabalharam com 23 espécies marinhas e relataram que muitos erros ocorrem quando é utilizada apenas análise macroscópica para determinar o estágio de maturação gonadal. A partir dos resultados obtidos, tais autores recomendam a utilização da análise microscópica.

Tabela 1. Resultados obtidos utilizando-se diferentes técnicas para detecção de carboidratos em ovário de *Hypostomus tietensis* em microscopia óptica. Técnicas: PAS = ácido periódico-Schiff; A.A. 2,5 = Azul de Alcian a pH 2,5; A.A. 1,0 = Azul de Alcian a pH 1,0. In. = inicial; It. = intermediária; Fi. = final; cf = células foliculares; ct = citoplasma; vv = vesículas vitelínicas; mv = membrana vitelina; gv = grânulos de vitelo. - = reação negativa; + = reação positiva; ++ = reação fortemente positiva.

FASES		TÉCNICAS			
		P.A.S.	A.A. 2,5	A.A. 1,0	
I		-	-	-	
II	cf	++	-	-	
	ct	+	-	-	
III	In.	cf	++	-	
		ct	+	-	
		vv	+	-	
	It.	cf	+	+	-
		ct	+	+	+
		vv	-	++	-
		mv	++	-	-
	Fi.	cf	+	+	-
		ct	+	+	-
		vv	-	-	-
		mv	++	-	-
	IV	cf	+	+	-
ct		+	+	+	
vv		-	-	-	
mv		++	-	-	
gv		++	+	+	
V	cf	+	+	-	
	mv	++	-	-	
	gv	++	-	-	

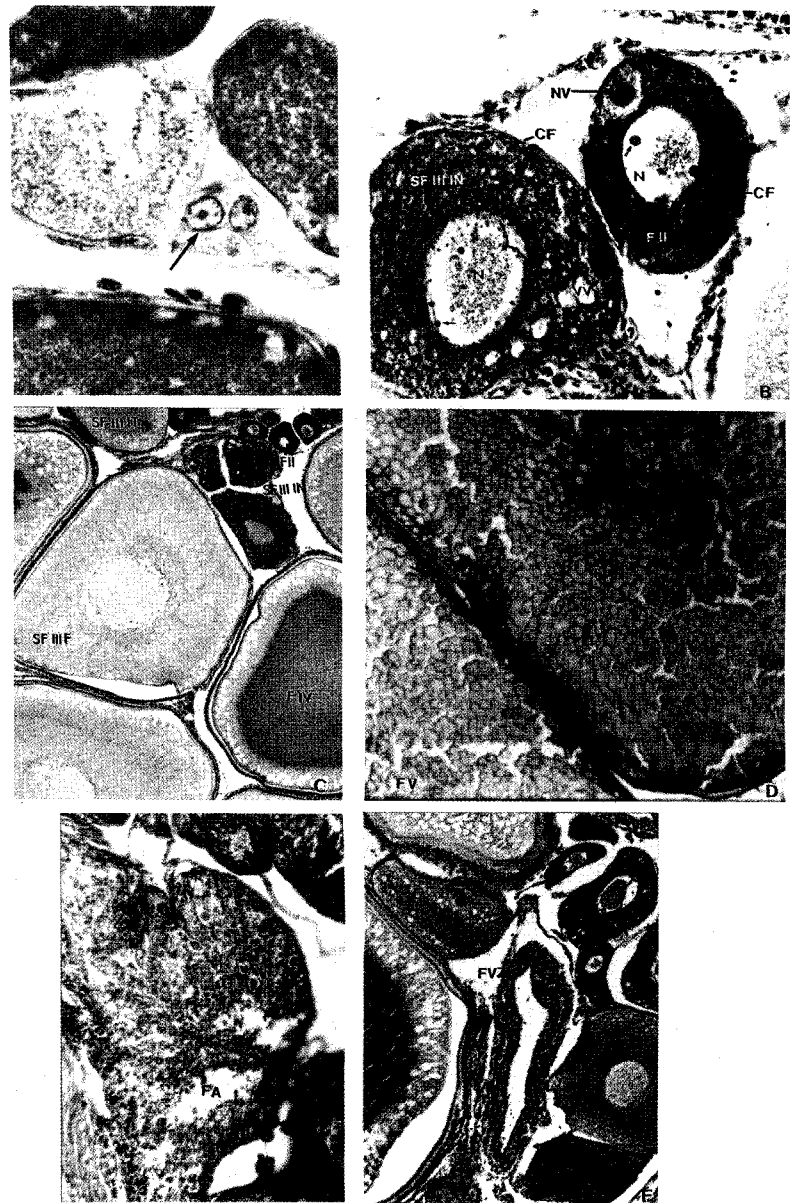


Fig. 1: a-Folículo ovariano fase I (seta). HE. 155x. b-Folículo ovariano na fase II (FII), núcleo vitelínico (NV), folículo ovariano sub-fase III inicial (SF III IN), vesículas vitelínica (VV), células foliculares (CF), núcleo (N) e nucléolo (seta pequena). HE. 77x. c-Folículos ovarianos na fase II (F II), sub-fase III inicial (SF III IN), sub-fase III intermediária (SF III IT), sub-fase III final (SF III F) e fase IV (F IV). HE. 17,2x. d-Folículos ovarianos fase V (F V). HE. 19,5x. e-Folículo atrésico (FA). HE. 17x. f-Folículo vazio (F VZ). HE. 20,5x.

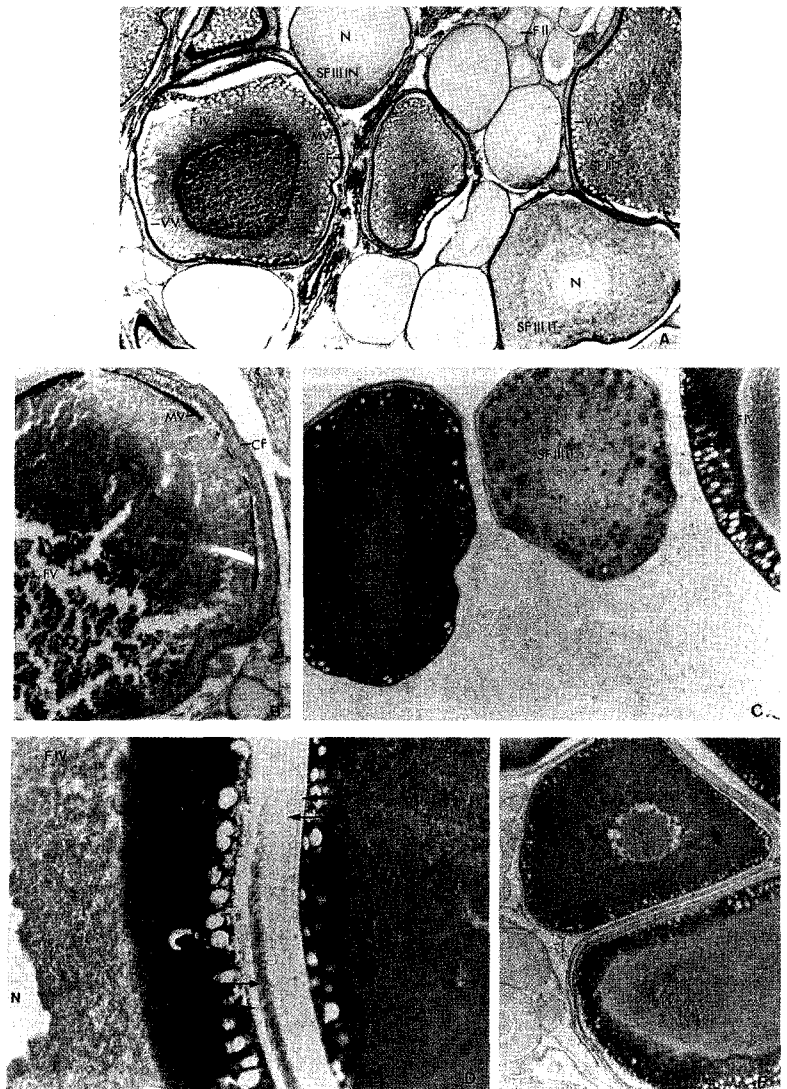


Fig. 2: a-Folículos ovarianos fases II (F II), sub-fase III inicial (SF III IN), sub-fase III intermediária (SF III IT), sub-fase III final (SF III F) e fase IV (F IV). Núcleo (N), grânulos de vitelo (GV), vesículas vitelínicas (VV), membrana vitelina (MV) e células foliculares (CF). PAS. 18,5x. b-Folículo ovariano fase V (F V). Grânulos de vitelo (GV), membrana vitelina (MV) e células foliculares (CF). PAS. 15,8x. c-Folículos ovarianos sub-fase III intermediária (SF III IT), sub-fase III final (SF III F) e fase IV (F IV). AA pH 2,5. 26x. d-Folículos ovarianos sub-fase III final (SF III F) e fase IV (F IV), membrana vitelina (MV) e células foliculares (CF). AA pH 2,5. 67x. e-Folículos ovarianos na sub-fase III final (SF III F) e fase IV (F IV). Núcleo (N), vesículas vitelínicas (VV) e células foliculares (CF). AA pH 1,0. 13x.

O número de fases de desenvolvimento ovocitário pode variar de acordo com a espécie e também com os critérios utilizados pelos autores.

Em *Hypostomus cf. tietensis* a ovogênese foi dividida em 5 fases de desenvolvimento, sendo que as características assumidas pelo folículo ovariano na fase I correspondem às denominadas ovogônias. Alguns autores consideram as ovogônias como sendo a primeira fase de desenvolvimento ovocitário (GODINHO, 1974; CARAMASCHI, GODINHO. & FORESTI, 1982; AGOSTINHO, NARAHARA & GODINHO, 1982; CHAVES & VAZZOLER, 1984; AGOSTINHO *et al.*, 1987; ZANIBONI FILHO & RESENDE, 1988; CHAVES, 1989; MENEZES & CARAMASHI, 1989; MATKOVIC & PISANÒ, 1989; SILVA & ESPER, 1991). Por se tratar de uma célula diferenciada e de características morfológicas definidas, consideramos esta como a célula inicial do processo de ovogênese. Outros autores não incluem as ovogônias nas fases do desenvolvimento ovocitário (GODINHO, 1972 *in* Isaac-Nahum *et al.*, 1983; CUSSAC & MAGGESE, 1986; LIMA, VAL-SELLA & TORQUATO, 1986).

Provavelmente a forte basofilia citoplasmática do ovócito na fase II em *Hypostomus tietensis* se deve ao fato do ovócito se encontrar em intensa síntese proteica, necessária para a manutenção do desenvolvimento ovocitário. O núcleo vitelínico, encontrado na maioria dos teleósteos nesta fase, localiza-se próximo ao núcleo da célula, mostra-se como uma mancha de contorno aproximadamente circular com granulação e basofilia diferentes do citoplasma, exatamente como em *Rhinelepis aspera*, descrito por AGOSTINHO *et al.* (1987).

As subdivisões da fase III do desenvolvimento ovocitário foram também descritas por MATKOVIC & PISANÒ (1989) de acordo com a localização das inclusões citoplasmáticas. Em *Hypostomus cf. tietensis* o critério utilizado para afirmar que o folículo ovariano apresenta-se na fase III, foi a presença de vesículas citoplasmáticas. A ausência do núcleo vitelínico (na fase III), leva a crer que este está intimamente associado com a vitelogênese, concordando com SILVA & ESPER (1991), que relacionaram o aparecimento do núcleo vitelínico à preparação estrutural da célula para a subsequente vitelogênese.

O aparecimento dos grânulos de vitelo na região central do ovócito, observado em *Hypostomus cf. tietensis*, foram observados também

por BARBIERI & BARBIERI (1985) e SILVA & ESPER (1991) para diferentes espécies.

DETECÇÃO DE CARBOIDRATOS NOS FOLÍCULOS OVARIANOS

No presente estudo, as técnicas utilizadas para detectar carboidratos não permitem descrever as funções exercidas por estes, pelo fato de não identificar se os mesmos se encontram ligados a outras moléculas orgânicas.

De acordo com RAMADAN *et al.* (1979) a formação do vitelo em peixes tem mostrado numerosas variações na origem, no número e nas transformações de inclusões de vitelo durante a ovogênese. As inclusões podem conter gordura ou proteína ou glicogênio (podendo conter os 2 últimos associados).

Segundo GUTIÉRREZ, SARASQUETE & RODRIGUEZ (1985), *Solea senegalensis* apresenta mucosubstâncias ácidas e glicoproteínas no citoplasma de ovócitos vitelogênicos, concordando com os resultados dos folículos ovarianos das fases III e IV em *Hypostomus cf. tietensis*. Na presente investigação foi detectado que o surgimento de carboidratos ácidos inicia na subfase III intermediária, quando as células foliculares começam a se modificar de pavimentosas para cúbicas, o que nos permite inferir que estas células possam ser em parte responsáveis pela síntese destes carboidratos. Nos folículos ovarianos quando se apresentam íntegros (células foliculares, membrana vitelina e ovócito), as células foliculares mostram conter carboidratos neutros e ácidos. Após a eliminação do ovócito, se dá a formação do folículo vazio (formado por células foliculares e tecido conjuntivo adjacente), o qual apresenta apenas reação positiva ao PAS, indicando a presença de carboidratos neutros. Este fato sugere que as células foliculares são em parte responsáveis pela síntese de carboidratos ácidos encontrados nos ovócitos em desenvolvimento.

A membrana vitelina assume composição química diferente em várias espécies, RAMADAN, EZZAT & HAFEZ (1979) e GUTIÉRREZ, SARASQUETE & RODRIGUEZ (1985) detectaram polissacarídeos neutros, RAMADAN *et al.* (1987) identificaram glicogênio e mucopolissacarídeos neutros. De acordo com Mayer *et al.* (1988) em *Dicentrarchus labrax* a zona radiata foi dividida em duas camadas: camada interna (PAS

negativa) e camada externa (PAS positiva). Nos ovócitos de *Astyanax bimaculatus lacustris*, estudados por LOPES *et al.* (1987) a zona radiata obteve reação PAS positiva e Azul de Alcian negativa, sendo que o mesmo ocorreu no presente estudo com *Hypostomus tietensis*. Pelo fato da membrana vitelina acompanhar o ovócito após a extrusão, pode-se sugerir que esta é responsável pela proteção do ovócito no meio externo bem como pela adesão do mesmo, sendo esta adesão possibilitada pelos compostos secretados pelas células foliculares junto a membrana vitelina. Ainda, a presença somente de carboidratos neutros, nos permite inferir que o espermatozóide além de possuir a morfologia compatível com a micrópila, deverá ter composição química específica para a membrana vitelina.

Nossos resultados demonstram que em *Hypostomus cf. tietensis* a síntese de carboidratos ácidos se dá nos folículos em vitelogênese e desaparece por completo nos ovócitos da fase V (folículo maduro), o que nos leva a crer que estas substâncias são necessárias para a manutenção da ovogênese. Os carboidratos neutros, detectados desde a fase II de desenvolvimento ovocitário e se fazendo presente em todas as demais fases, podem estar associados com o desenvolvimento inicial do embrião.

RESUMO

No presente estudo, a ovogênese de *Hypostomus cf. tietensis* foi estudada ao nível morfológico e citoquímico. A morfologia foi observada pela técnica Hematoxilina-Eosina, sendo detectadas 5 fases de desenvolvimento com base no tamanho dos folículos, afinidade pelos corantes, inclusões citoplasmáticas e presença de membranas foliculares. Para a identificação dos carboidratos foram utilizadas as técnicas do PAS, Azul de Alcian pH 2,5 e Azul de Alcian pH 1,0. Os carboidratos neutros foram demonstrados em todas as fases do desenvolvimento, exceto na fase I. Os carboidratos ácidos carboxilados foram demonstrados a partir da sub-fase III intermediária até a fase V, sendo que nesta última apresentou reação positiva somente nas células foliculares. Os carboidratos ácidos sulfatados foram observados a partir da sub-fase III intermediária até a fase IV.

PALAVRAS CHAVE: Loricariidae, *Hypostomus*, reprodução, ovogênese.

SUMMARY

In the present study, the oogenesis of *Hypostomus cf. tietensis* was studied at morphological and cytochemical level. Morphology was observed through the Hematoxylin-Eosin technique, being detected five development phases based on the size of the follicles, stain affinity, cytoplasmatic inclusions, and the presence of follicular membranes. The carbohydrates were studied by the following techniques: PAS, Alcian blue pH 2,5 and Alcian blue pH 1,0. The neutral carbohydrates were demonstrated in all development stages, except in the stage I. The carboxylated acids carbohydrates were demonstrated from the intermediate sub-phase III until stage V, where positive reaction was showed only in the follicular cells. The sulphated acids carbohydrates were observed from the intermediate sub-stage III to the stage IV.

KEY WORDS: Loricariidae, *Hypostomus*, reproduction, oogenesis.

RÉSUMÉ

L'ovogenese de *Hypostomus cf. tietensis* a été étudiée sur les aspects morphologique cytochimique. La morphologie a été étudiée avec la technique Hematoxiline-Eosine. Cinq stage de développement a été détecté basée sur la taille des follicules, affinité par les colorants, inclusions cytoplasmatiques et présence des membranes folliculaire. Les carbohydrates ont été étudié par les techniques PAS, blue d'Alcian pH 2,5 et pH 1,0. Les carbohydrates neutre ont été démontrés dans toutes les stages de développement a l'exception du premier (I). Les carbohydrates acide carboxylées ont été démontrés depuis la phase intermédiaire du III stage jusqu'au V stage, où des réactions positives ont été démontrés seulement dans les cellules folliculaires. Les carbohydrates sulfatés ont été observés depuis la phase intermédiaire du III stage jusqu'au V stage.

MOTS CLÉS: Loricariidae, *Hypostomus*, reproduction, l'ovogenese.

BIBLIOGRAFIA *

- AGOSTINHO, A. A.; M. Y. NARAHARA & H. M. GODINHO. 1982. Morfologia dos ovários de *Plecostomus commersonii* (Valenciennes, 1840) Osteichthyes - Loricariidae: desenvolvimento dos ovócitos e Escala de maturidade. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 42 (1): 71-77.
- AGOSTINHO, A. A.; M. C. BARBIERI; G. BARBIERI; C. S. AGOSTINHO. 1987. Biologia reprodutiva de *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Teleostei, Loricariidae) no Rio Paranapanema. II. Estrutura dos ovários e estádios de maturação. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 47 (3): 319-328.
- BARBIERI, M.C. & G. BARBIERI. 1985. Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de ovário. Variação sazonal (Teleostei, Gymnotidae). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 45 (1/2): 3-12.
- CARAMASCHI, E. P.; H. M. GODINHO. & F. FORESTI. 1982. Reprodução de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) na represa do Rio Pardo (Botucatu, SP). I. Histologia e escala de maturação do ovário. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 42 (3): 635-640.
- CHAVES, P. T. C. & A. E. A. M. VAZZOLER. 1984. Aspectos biológicos de peixes amazônicos. II. Anatomia microscópica de ovários, escala de maturidade e tipo de desova das espécies do gênero *Semaprochilodus*. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 44 (3): 347-359.
- CHAVES, P. T. C. 1989. Desenvolvimento dos ovócitos em *Harengula clupeiola*, *Urophycis brasiliensis*, *Eucinostomus argenteus*, *Isopisthus parvipinnis* e *Menticirrhus americanus* (Teleostei). *Bol. Inst. oceanogr.*, São Paulo, 37 (2): 81-93.
- CUSSAC, V. E. & M. C. MAGGESE. 1986. Oogenesis in *Rhamdia sapo* (Pisces, Pimelodidae). Stages of the oocyte, egg's envelopes and effects of the human chorionic gonadotropin. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 46 (1): 139-147.

- 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.*, Rio de Janeiro, 58 (1): 55-69.
- GODINHO, H. M.; S. FERRI; L. O. MEDEIROS & J. M. B. BARKER. 1974. Morphological changes in the ovary of *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei). Related to the reproductive cycle. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 34 (4): 581-588.
- GUTIÉRREZ, M.; SARASQUETE, M. C. ; RODRIGUEZ, R. B. 1985. Caracteres citohistoquímico de carbohidratos y proteínas durante la ovogénesis del lenguado, *Solea senegalensis* Kaup, 1858. *Invest. Pesq.*, Barcelona, 49 (3): 353-363.
- ISAAC-NAHUM, V. J.; A. E. A. M. VAZZOLER & E. M. ZANETTI-PRADO. 1983. Estudo sobre estrutura, ciclo de vida e comportamento de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) na área 22°S e 28°S, Brasil, 3, Morfologia e histologia de ovários e escala de maturidade. *Bol. Inst. oceanogr.*, São Paulo, 32 (1): 1-16.
- LIMA, R. L. V. A.; M. V. VAL-SELLA & V. S. TORQUATO. 1986. Organização e desenvolvimento das gônadas do Dourado (*Salminus maxillosus* Val.) durante o ciclo reprodutivo. *Bol. Fisiol. Anim.*, São Paulo, 10: 139-154.
- LOPES, R. A.; I. WATANABE; A. NUTI-SOBRINHO; H. S. L. SANTOS & O. V. PAULA-LOPES. 1987. On the reproduction of brazilian fishes. XIII. Scanning electron microscopic study of the rhythm of development in oocyte of the Lambari (*Astyanax bimaculatus*) Reinhardt, 1874. (Pisces, Characidae). *Rev. Bras. Ciên. Morfol.*, São Paulo, 4 (2): 99-105.
- MAYER, I.; S. E. SHACKLEY & J. S. RYLAND. 1988. Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. I. An histological and histochemical study of oocyte development. *J. Fish Biol.*, London, 33: 609-622.
- MATKOVIC, M. & A. PISANÒ. 1989. Oogenesis and ovulation in normal conditions or induced by homologus hypophysis in *Hoplias m. malabaricus* (Pisces-Erythrynidae). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 49 (1): 203-212.

- MENEZES, M. S. & E. P. CARAMASHI. 1994. Características reprodutivas de *Hypostomus* Grupo *H. punctatus* no rio Ubatiba, Maricá, RJ (Osteichthyes, Siluriformes) *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 54 (3): 503-513 *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 54 (4): 581-588.
- NEVES, C. A.; D. R. ANDRADE; S. L. P. MATTÁ; M. V. VIDAL JR. & A. A. SANTOS. 1992. Citoquímica dos carboidratos dos glóbulos de vitelo nos ovócitos do Lambari-Bocarra (*Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864). *Encontro Anual de Aquicultura de Minas Gerais*, Belo Horizonte, 10: 12-16.
- RAMADAN, A. A.; A. EZZAT & S. HAFEZ. 1979. Studies on fish oogenesis. III. Cytochemical studies on developing oocytes of *Merluccius*. *Folia Morphol.* (Prague), 27 (3): 172-181.
- RAMADAN, A. A.; A. A. EZZAT; S. E. M. KHADRE; N. A. MEGUID & EL-S. H. A. AZIZ. 1987. Cytological and cytochemical changes in the ovary of *Sparus aurata* during the annual reproductive cycle. *Folia Morphol.* (Prague), 35 (3): 237-250.
- SILVA, R. M. P. C. & M. L. P. ESPER. 1991. Observações sobre o desenvolvimento citomorfológico dos ovários de Tainha, *Mugil platanus* (Gunther) da Baía de Paranaguá (Brasil). *Acta Biol. Par.*, Curitiba, 20 (1, 2, 3, 4): 15-39.
- WEST, G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, East Melbourne, 41: 199-222.
- ZANIBONI-FILHO, E. ; E. K. RESENDE. 1988. Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo de desova do Matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, 48.(1): 833.