

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA - UNIR Núcleo de Ciências e Tecnologia Departamento de Ciências Biológicas

ANÁLISE HISTOLÓGICA DAS GÔNADAS DE Pellona castelnaeana (Valenciennes, 1847): UM CASO DE HERMAFRODITISMO PARA UMA ESPÉCIE DE PEIXE DA AMAZÔNIA

ANA CAROLINA FERREIRA MOTA

Porto Velho, Rondônia 2009

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA - UNIR Núcleo de Ciências e Tecnologia Departamento de Ciências Biológicas

ANÁLISE HISTOLÓGICA DAS GÔNADAS DE Pellona castelnaeana (Valenciennes, 1847): UM CASO DE HERMAFRODITISMO PARA UMA ESPÉCIE DE PEIXE DA AMAZÔNIA

ANA CAROLINA FERREIRA MOTA

Orientador: Dra. Gislene Torrente-Vilara. Co-orientador: MSc. Rodrigo Neves dos Santos.

Monografia apresentada ao Departamento de Biologia da Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Porto Velho, Rondônia 2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Mota, Ana Carolina Ferreira

M917a

Análise histológica das gônadas de *Pellona castelnaeana* (valenciennes, 1847): um caso de hermafroditismo para uma espécie de peixe da Amazônia. / Ana Carolina Ferreira Mota. Porto Velho, Rondônia, 2009. 56f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia), Fundação Universidade Federal de Rondônia / UNIR, Porto Velho, Rondônia, 2009.

Orientadora: Prof. Dra. Gislene Torrente Vilara.

1. Apapá. 2. Hermafrodita. 3. Reversão sexual. 4. Rio Madeira - Rondônia I. Torrente-Vilara, Gislene. II. Título.

CDU: 591.167(811.1)

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Ozelina Saldanha
Biblioteca Central / UNIR

ANA CAROLINA FERREIRA MOTA

ANÁLISE HISTOLÓGICA DAS GÔNADAS

DE *Pellona castelnaeana* (Valenciennes, 1847):

UM CASO DE HERMAFRODITISMO PARA

UMA ESPÉCIE DE PEIXE DA AMAZÔNIA.

	Comissão Examinadora			
	Dra. Gislene Torrente Vilara			
	Dra. Carolina Rodrigues da Costa Doria			
	Dra. Sidineia Amadio			
Porto Resultado	Velho,	_ de	de	

Ao maior e verdadeiro amor da minha vida: Raimundo, Célia e Aurélio.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus! Obrigada pela vida maravilhosa que me destes, pela minha família, pelos meus amigos, pela minha saúde, pela minha inteligência, por todas as oportunidades que me foram oferecidas até hoje, por sempre me acompanhar, me abençoar e iluminar cada trilha da minha vida. E que assim continue...

À minha grande e maravilhosa família, meus pais Ana Célia e Raimundo, meu irmão Aurélio, por sempre me apoiar em todas as minhas decisões, por chamar minha atenção quando necessário, por tentar me mostrar os melhores caminhos. Por compreender todas as minhas faltas e ausências, pelas preocupações com as minhas viagens e idas a campo, sem o apoio deles nada do que consegui realizar até hoje na minha vida seria possível.

À minha orientadora Gi, por ter acreditado em meu trabalho e em meu potencial, pela orientação, por todo o ensinamento e sugestões, pela motivação durante a execução do trabalho e na concepção das idéias, quantas idéias!!! Por tão humildemente e me acolhido em sua casa e pelo total companheirismo e amizade, e pela motivação de seguir a diante ao longo dessa jornada de aprendizado. Muito Obrigada Gi!!

Ao meu co -orientador Rodrigo, muito obrigado por todo o ensinamento sobre histologia e reprodução sem o qual esse trabalho nunca teria saído! Por toda motivação durante este trabalho, por toda contribuição na execução deste trabalho, por toda paciência em Manaus, por sempreeeeee me ouvir (né Rô), pelo companheirismo e pela amizade.

Quero também agradecer a dois grandes pesquisadores que tive a oportunidade de conhecer e com os quais compartilhei preciosos momentos. À Sid, por ter permitido "alugar" não somente sua sala no INPA, como também seus livros e toda a sua sabedoria nos momentos de discussão enquanto tentávamos entender esse bicho. Ao Jansen, que mesmo sem tempo, ainda sim conseguia um tempinho para suas sugestões, seus conselhos a respeito desse trabalho.

Ao Laboratório de Ictiologia e Pesca da UNIR por toda estrutura física para a realização com êxito a conclusão deste trabalho. A todos os amigos e companheiros constituintes deste singular ambiente, é muuuita gente, mas por favor sintam-se todos agradecidos. A todos vocês eu agradeço por toda a presteza em sempre colaborar, pelas trocas de informações, discussões, experiências, e é claro, pelos bons momentos de descontração, por todas as idas a campo e pelos deliciosos almoços na nossa copa.

Ao INPA, por toda infra-estrutura a qual foi possível concluir com êxito esse trabalho, todas as experiências e aprendizados adquiridos, todas as pessoas conhecidas, e possíveis futuros companheiros de trabalho. A pessoa do Carlos

Henrique Schneider, por toda sua disposição e colaboração com as fotos das inúmeras lâminas!! Obrigada!

Ao meu Namorado Semaías do Prado Maia, meu MOR! Um verdadeiro companheiro de quase 3 anos, por toda sua paciência, em todos os meus momentos de ausência, por sempre falar que estava sem tempo, por muitas vezes não dar a atenção merecida, mas que mesmo assim sempre muito carinhoso e amigo, e acima de tudo maior incentivador das minhas idéias e do meu sucesso. TE AMO!

As minhas queridas amigas de Agora & Sempre, por entender as minhas ausências e sempre me perguntarem se eu ainda estou viva! Amizade verdadeira de infância pra sempre. Amo todas. E as novas amizades conquistadas ao longo desses quatro anos, todas as minhas companheiras e parceiras de graduação, por todos os trabalhos realizados juntos, o companheirismo, as lamentações, e principalmente às saídas para descontração que temos que repetir sempre!! Enfim, todos os queridos companheiros dessa longa jornada de aprendizado que foi a graduação.

À SAESA (Santo Antônio Energia) pela execução do projeto "Monitoramento e Conservação da Ictiofauna do rio Madeira na Área de Influência direta e indireta do AHE Santo Antônio", pelo qual tive a oportunidade de conhecer melhor as belezas do nosso grande rio Madeira e obter o material necessário para este estudo. Agradeço aos motoristas, barqueiros, pescadores e todos que estiveram envolvidos durante a realização do projeto.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	
ABSTRACT	xiv
_	
INTRODUÇÃO	
Revisão da literatura	3
1. OBJETIVOS	
1.2. Objetivo geral	
1.2. Objetivos específicos	5
2. MATERIAL E MÉTODOS	6
2.1. Áreas de estudo	
2.2. Obtenção das amostras	
2.3. Captura dos peixes	
2.4. Escala reprodutiva	
2.5. Análise histológica	
2.6. Análise de dados	
2.0. Analise de dados	1 1
3. RESULTADOS	13
3.1. Abundância	
3.2. Estrutura em comprimento e proporção sexual	
3.3. Morfologia das gônadas	
3.4. Desenvolvimento ovocitário	
3.5. Fases do desenvolvimento ovariano	22
3.6. Espermatogênese	
3.7. Fases do desenvolvimento testicular	
3.8. Erros na sexagem macroscópica	27
3.9. Hermafroditismo	28
4. DISCUSSÃO	30
CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	30
ANEVOS	40

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Código e coordenadas de cada tributário amostrado durante o período de estudo
Tabela 2: Número de exemplares de fêmeas, machos e hermafroditas de <i>Pellona castelnaeana</i> por classe de comprimento (40 mm)
Tabela 3: Valores do teste G, por classe de comprimento e para a amostra tota de <i>Pellona castelnaeana</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplar de <i>Pellona castelnaeana</i>
Figura 2: Mapa da área com os pontos de coleta, entre os municípios de Costa Marques - RO e Nova Olinda do Norte-AM no rio Madeira
Figura 3: Gamboas ao longo da calha do rio Madeira no mês de agosto de 2005, período de maior registro de ocorrência dos jovens de <i>Pellona castelnaeana</i> , nas proximidades da vila Teotônio, Porto Velho, Rondônia 10
Figura 4: Abundância dos espécimes de <i>Pellona castelnaeana</i> , entre os pontos de coleta, no médio Madeira (Rondônia), no período entre Novembro de 2008 e Setembro de 2009
Figura 5: Freqüência de ocorrência relativa dos exemplares de <i>P. castelnaeana</i> entre as classes de comprimento padrão (mm)
Figura 6: Exemplar fêmea de <i>Pellona castelnaeana</i>
Fig. 7 (a). Corte histológico do ovário de <i>Pellona castelnaeana</i> mostrando epitélio cúbico simples (seta); tecido conjuntivo (*) e ovócitos (O). Fig. 7. (b). Corte histológico do ovário de Pellona castelnaeana, com ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento aderidos às lamelas ovulígeras (setas) e vaso sanguineo (v)
Fig. 8: Exemplar macho de <i>Pellona castelnaeana</i>
Fig. 9. Corte histológico do testículo de Pellona castelnaeana mostrando epitélio cúbico simples (seta); tecido conjuntivo (*) e túbulos seminíferos (TS) contendo grande quantidade de células da linhagem espermatogênica19
Figura 10. Fases do desenvolvimento ovocitário de Pellona castelnaeana. (a) Ninhos de ovogônias (*) e ovócitos cromatina nucleolar (OII). (b) Ovócitos cromatina nucleolar (setas). (c) Ovócitos em vitelogênese lipídica com vacúolos lipídicos (setas), núcleos (n) e nucléolos. (d) Ovócitos em vitelogênese lipídica e protéica com vacúolos lipídicos (setas) e grânulos de proteína (*). (e) Ovócitos em vitelogênese lipídica e protéica, membrana vitelínica (setas), células foliculares (F) com vacúolos lipídicos vacúolos lipídicos (*) e grânulos de proteína (G). (f) Ovócitos com vitelogênese total, com grande quantidade de vitelo protéico (setas) e ovócitos em fase inicial de desenvolvimento (OII) 21
Figura 11. Fases do desenvolvimento ovariano de Pellona castelnaeana. (a) Ovário imaturo com ninhos de ovogônias (OI) e ovócitos cromatina nucleolar (OII) aderidos às lamelas ovulígeras (LO) e a túnica albugínea (T). (b) Ovário em maturação com ovócitos cromatina nucleolar (OII), em vitelogênese lipídica com vacúolos lipídicos (OIII), ovócitos em vitelogênese lipídica e protéica com vacúolos lipídicos e grânulos de proteína (OIV). (c) Ovário maduro com

ovócitos com vitelogênese total, com grande quantidade de vitelo protéico e ovócitos em fase inicial de desenvolvimento (OII)23
Figura 12. Testículo de Pellona castelnaeana. (a) Túbulo seminífero (TS); Espermatogônias (SG); Espermatócitos (ST). (b) Células de Sertoli; cistos de espermatogônias (SG) e espermatócitos (ST)
Figura 13. Testículo imaturo de Pellona castelnaeana. Túbulos seminíferos (TS); parede dos túbulos seminíferos (T); Espermatogônias (SG) e espermatócitos (ST)
Figura 14. Testículo em maturação de Pellona castelnaeana. Túbulo seminífero (TS); parede dos túbulos seminíferos (T); Espermatogônias (SG) e espermatócitos (ST)
Fig.15. Corte histológico da gônada de um indivíduo hermafrodita de Pellona castelnaeana. Notar a presença de ninhos de espermatogônia (*) e ovócitos em fases iniciais de desenvolvimento (O)
Fig. 16 (a). Corte histológico da porção ovariana da gônada de um indivíduo hermafrodita de Pellona castelnaeana. Notar a presença de ovócitos em fases iniciais (O). Fig. 16 (b). Corte histológico da porção testicular da gônada de um indivíduo hermafrodita de Pellona castelnaeana, evidenciando a presença de células da linhagem espermatogênica (*) e a túnica albugínea (seta)

RESUMO

MOTA, A. C. F. ANÁLISE HISTOLÓGICA DAS GÔNADAS DE *Pellona* castelnaeana (Valenciennes, 1847): UM CASO DE HERMAFRODITISMO PARA UMA ESPÉCIE DE PEIXE DA AMAZÔNIA

Indivíduos hermafroditas são aqueles que possuem simultaneamente em suas gônadas células da linhagem espermatogênica e ovogênica (Kavanagh, 2004). Quando a mesma gônada apresenta os dois tipos de gametas é denominada de ovotestis (Matos, 2002). Esse processo pode se desencadear de duas maneiras: pode ser simultâneo, quando ambos os ovócitos e espermatozóides amadurecem simultaneamente, ou sequencial, quando funcionalmente macho ou fêmea em períodos alternados ao longo do seu ciclo de vida. Estes podem ser então classificados em protogínicos, quando a inversão transforma fêmeas em machos e protândricos, quando os machos sofrem reversão e transformam-se em fêmeas. Para confirmar a hipótese de hermafroditismo protândrico proposto por Le Guennec & Loubens (2004) para Pellona castelnaeana foram realizadas análises histológicas das gônadas de exemplares capturados na bacia do rio Madeira. A análise histológica permitiu identificar quatro exemplares hermafroditas. Três deles apresentaram células da linhagem espermatogênica na gônada direita e da linhagem ovogênica na gônada esquerda, e um exemplar registrou células da linhagem ovogênica na gônada esquerda e ovotestis na gônada direita. Pellona castelneana é hermafrodita, mas não foi possível confirmar hermafroditismo protândrico, como sugerido por Le Guennec & Loubens (2004). O resultado encontrado gerou o levantamento de hipóteses que serão investigadas em futuros trabalhos.

ABSTRACT

MOTA, A. C. F. HISTOLOGICAL ANALYSIS OF GONADS OF *PELLONA CASTELNAEANA* (VALENCIENNES, 1847): A HERMAFRODITISM CASE FOR A FISH SPECIE FROM THE AMAZON.

Hermaphrodite Individuals have in their gonads both spermatogenic and oogenic cells (Kavanagh, 2004). When the same gonad presents two types of gametes it is called ovotestis (Matos, 2002). This process can be triggered in two ways: simultaneous, when both oocytes and sperm cells mature at the same time; or sequential, where the fish is functionally male or female in alternating periods throughout the life cycle. These can then be classified as protogynous, when the inversion transforms females into males, and protandrous, when males suffer reversal and turn into females. To confirm the hypothesis proposed by Le Guennec & Loubens (2004) of protandric hermaphroditism for Pellona castelnaeana, histological analysis were performed of the gonads of the fishes caught in the Madeira River basin. Histological analysis allowed us to identify four hermaphrodites fishes. Three of them showed spermatogenic cells on the right gonad and oogenic lineage on the left gonad. A single fish recorded oogenic cells on the left gonad and ovotestis on the right gonad. Pellona castelnaeana is hermaphroditic but we could not confirm protandric hermaphroditism, as suggested by Le Guennec & Loubens (2004). The findings from the survey have generated hypotheses that will be investigated in future works.

INTRODUÇÃO

Os peixes teleósteos alcançaram sucesso em ambientes distintos por apresentarem várias estratégias reprodutivas que englobam táticas extremas. A estratégia reprodutiva pode ser definida como o conjunto de táticas de uma espécie para ter sucesso na reprodução, de modo a garantir o equilíbrio populacional. (Vazzoler, 1996). As mudanças das condições abióticas e a pressão da pesca são alguns dos fatores que podem modificar as táticas reprodutivas de peixes (Barbieri, 2004).

A maioria das espécies de peixes tem sido reconhecida por apresentar mecanismo reprodutivo gonocorístico ou bissexuado, ou seja, os indivíduos são do sexo masculino ou do sexo feminino (Vazzoler, 1996). Entretanto, a diversidade de estratégias reprodutivas inclui casos de peixes unissexuais e hermafroditas.

Mudança sexual de fêmea para macho ou vice-versa é bem conhecida entre os teleósteos (Kuwamura and Nakashima, 1998), e dentre os diversos grupos de peixes, a superordem Teleostei é única em apresentar processo de reversão sexual ocorrendo como um fenômeno natural.

Na natureza, o controle sexual é primeiramente determinado geneticamente, e a transformação do genótipo para o fenótipo é alcançada somente através de processos bioquímicos, os quais são susceptíveis às influencias ambientais (Chan and Yeung, 1969). Portanto, o controle sexual, tanto em peixes quanto em outros organismos é controlado por ambos os fatores intrínsecos (genético) e extrínsecos (ambientais).

Indivíduos hermafroditas são aqueles que possuem simultaneamente em suas gônadas células da linhagem espermatogênica e ovogênica (Kavanagh, 2004). Quando a mesma gônada apresenta os dois tipos de gametas é denominada na literatura de ovotestis (Matos, 2002).

O processo de hermafroditismo pode se desencadear de duas maneiras: pode ser simultâneo, quando ambos os ovócitos e espermatozóides amadurecem ao mesmo tempo, como exemplo, *Kriptolebias marmoratus* que é hermafrodita e capaz de realizar auto-fecundação (Tatarenkov *et al.*, 2009); ou ser consecutivo, quando o peixe é funcionalmente macho ou fêmea em

períodos alternados ao longo do seu ciclo de vida. Estes podem ser então classificados em protogínicos, quando a inversão transforma fêmeas em machos, e protândricos, quando os machos sofrem reversão e transformam-se em fêmeas (Price,1984).

O hermafroditismo foi relatado em 34 famílias de teleósteos e, aparentemente é mais comum em espécies marinhas quando comparado aos registros para espécies de águas continentais (Kuwamura and Nakashima, 1998), entre elas os peixes da ordem Clupeiformes. A ordem inclui sardinhas da costa marinha distribuída em todo oceano tropical e em águas continentais da América do Sul e do sudeste da Ásia.

As espécies da família Pristigasteridae (ordem Clupeiformes) são sardinhas de água doce ou salobra que podem ser diferenciadas das sardinhas de outras famílias pela longa nadadeira anal, com pelo menos 30 raios. Também a nadadeira pélvica é menor em Pristigasteridaes do que em Clupeidae, sendo que nestes últimos a nadadeira peitoral alcança ou até ultrapassa a base da nadadeira pélvica. (Reis, 2003).

No cenário amazônico são encontrados três gêneros de sardinhas e cinco espécies, todas de água doce, popularmente denominadas de sardinhão, ou apapá. Dentre as espécies de grande porte na bacia do rio Madeira são encontradas: *Pellona castelnaeana*, *Pellona flavipinnis e Ilisha amazônica*.

Pellona castelnaeana é uma espécie que habita as águas doces da região neotropical. Freqüentemente é encontrada entre o pantanal matogrossense e a bacia Amazônica e vive em águas das bacias do rio Madeira e do rio Mamoré, no Brasil e na Bolívia. É regionalmente conhecido como apapáamarelo e constitui uma espécie importante na pesca de subsistência na Amazônia (Batista & Petrere Jr., 2003).

Pellona castelnaeana (Figura 1) foi registrada no desembarque pesqueiro do principal mercado do estado de Rondônia (Doria et al., 2004) e aparentemente representa uma das poucas espécies da família Pristigasteridae exploradas comercialmente na Amazônia brasileira (Ikeziri et al., 2008).



Figura 1: Exemplar de *Pellona castelnaeana*. Foto: Tiago H. S. Pires.

REVISÃO DA LITERATURA

Sobre a biologia reprodutiva dessa espécie, três trabalhos merecem especial atenção: Loubens & Aquim (1986), Chaves (1992) e Le Guennec & Loubens (2004).

Loubens & Aquim (1986) foram os primeiros autores a levantar uma hipótese de hermafroditismo para a espécie *Pellona castelaneana*.

Chaves (1992) analisou macroscopicamente a morfologia das gônadas dos exemplares fêmeas dessa espécie e que primeiro constatou a diferença de volume entre as gônadas direita e esquerda, sendo esta última sempre maior.

Le Guennec & Loubens (2004) descreveram, dentre 1096 exemplares de *Pellona castelaneana*, um indivíduo hermafrodita de 408 mm nas amostras da bacia do rio Mamoré, Amazônia boliviana. Os autores e sugeriram um processo parcial de hermafroditismo protândrico para *Pellona castelnaeana*, ou seja, todos os indivíduos que nascem fêmea permanecem fêmea ao longo da vida, no entanto dentre os indivíduos que nascem machos, alguns deles permanecem machos ao longo da vida, e uma parte deles sofre processo de hermafroditismo protândrico e transformam-se em fêmeas. Estes autores desenvolveram uma escala reprodutiva para a espécie com base em observações de porções do tecido reprodutivo.

Entretanto, em nenhum destes trabalhos foi realizado análise histológica para confirmação do sexo e estádio de maturação gonadal.

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi investigar o hermafroditismo em *Pellona castelnaeana* e descrever histologicamente, as diferentes fases do ciclo reprodutivo encontradas durante o processo.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GERAL

Investigar o processo de hermafroditismo em Pellona castelnaeana.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a estrutura em tamanho e proporção sexual por classes de comprimento da população;
- Confirmar o desenvolvimento gonadal por meio de técnicas histológicas;
- Investigar histologicamente a ocorrência do processo de reversão sexual;
- Identificar a partir de que tamanho o processo de reversão sexual pode ser detectado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDO

O rio Madeira é um dos maiores rios do mundo (Goulding, 1979), nasce nos Andes bolivianos, a partir da junção dos rios Beni e Mamoré, e possui uma extensão total de aproximadamente 3.400 km, sendo que desses 1.500 km são em território brasileiro (Bernardi, 2009). É o maior afluente do rio Amazonas e sua bacia hidrográfica possui uma área total de aproximadamente 1,52 milhões de km², o que corresponde a cerca de 24% da bacia Amazônica, sendo o dobro do tamanho de qualquer outra bacia tributária do rio Amazonas (ANEEL, 2000).

Esse rio é responsável por 15% do total da descarga hídrica do rio Amazonas e os afluentes mais expressivos estão na margem direita (Bernardi, 2009). As suas águas são altamente turvas, de cor amarela barrenta e com grande quantidade de material em suspensão, provenientes de sedimentos da região dos Andes, onde possui sua nascente. (Sioli, 1991).

O rio Madeira é constituído por várias corredeiras em sua parte alta, que corresponde ao trecho de 353 km entre Porto Velho e Guajará – Mirim, e nas partes média e baixa apresenta áreas típicas de planície de inundação, especialmente à jusante da Cachoeira do Teotônio, principal corredeira do rio. Esse trecho de corredeiras a montante de Porto Velho representa uma variedade de habitats especiais nesta bacia (Goulding, 1979).

As margens do rio Madeira são compostas de lama e praias arenosas durante a estação seca, com bancos de até 30 metros de altura em alguns lugares (Torrente-Vilara et al., 2008). O regime hidrológico é caracterizado pelo período de enchente entre os meses de Novembro e Fevereiro, fase de cheia entre os meses de Março e Abril, enquanto o período da vazante corresponde aos meses de maio a julho e a fase da seca entre os meses de Agosto e Outubro (Torrente-Vilara et al., 2008).

2.2. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As coletas foram realizadas dentro do Programa de "Monitoramento e Conservação da Ictiofauna do rio Madeira na área de Influência direta e indireta do AHE Santo Antônio" nos meses de Novembro e Dezembro de 2008 e de Abril a Setembro de 2009 em 14 tributários localizados entre os municípios de Costa Marques— RO e Nova Olinda do Norte – AM. (Figura 1).

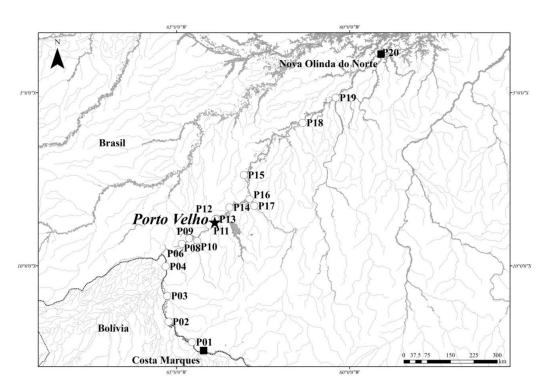


Figura 2: Mapa da área com os pontos de coleta, entre os municípios de Costa Marques - RO e Nova Olinda do Norte-AM no rio Madeira. Fonte: LIP/UNIR.

As estações de coleta estavam localizadas nas regiões de 14 importantes áreas do rio Madeira que incluiu a região da foz e montante de tributários bem como alguns lagos, mapeando os habitats de ocorrência da espécie em estudo (Tabela 1). A periodicidade de coleta nesses 14 pontos foi mensal durante o período de estudo.

Duas coletas extras foram realizadas em mais seis tributários sendo três localizados a montante da área de coletas mensais, nos rios Cautário, Sotério e Pacaas Novos, e três a jusante da área das coletas mensais, nos rios Manicoré, Aripuanã e o lago Sampaio.

Tabela 1: Código e coordenadas de cada tributário amostrado durante o período de estudo.

		Coordenadas		
Pontos	Código	Latitude	Longitude	
Rio Cautário	P01	12º 11' 21.4"	64° 33′ 9.6″	
Rio Sotério	P02	11° 36′ 23.2″	65° 13′ 34.5″	
Rio Pacaás	P03	10° 51' 45.6"	65° 16′ 14.8″	
Igarapé Arara	P04	10° 0' 56.8"	65° 18' 45.9"	
Rio Mutum Paraná	P05	59° 35' 55.7"	64° 55′ 16.5″	
Igarapé São Lourenço	P06	9° 21' 55.2"	64° 50' 51.7"	
Rio Karipunas foz	P07	9° 11' 39.6"	64° 37′ 27.1″	
Rio Karipunas montante	P08	9° 12′ 35.2″	64° 38' 13.6"	
Rio Jaci Paraná foz	P09	9° 17" 0.9"	64° 23′ 57.1″	
Rio Jaci Paraná montante	P10	9° 27' 9.9"	64° 24′ 56.7″	
Igarapé Jatuarana	P11	8° 49' 54.1"	64° 2' 55.6"	
Igarapé Belmont foz	P12	8° 38' 33.7"	63° 50' 58.5"	
Igarapé Belmont montante	P13	8° 39' 40.2"	63° 52′ 40.3″	
Lago Cuniã	P14	8° 19' 13.7"	63° 28' 18.5"	
Lago Puruzinho	P15	7° 22' 21.3"	63° 3′ 10.1″	
Rio Machado foz	P16	8° 4' 13.6"	62° 53′ 14.9″	
Rio Machado montante	P17	8° 16' 38.4"	62° 45′ 14,9″	
Rio Manicoré	P18	5° 52' 7.8"	61° 21' 22.6"	
Rio Aripuanã	P19	5° 8' 30.5"	60° 24′ 3.3″	
Lago Sampaio	P20	3° 50' 24.7"	59° 10' 11"	

2.3. CAPTURA DOS PEIXES

O registro preliminar de ocorrência dessa espécie em diferentes habitats conforme o tamanho dos exemplares de *P. castelnaeana* a serem capturados exigiu aplicar dois métodos diferentes de captura dos peixes: malhadeiras e rede de cerco.

Os exemplares nas maiores classes de comprimento foram capturados por meio de um conjunto composto por 13 malhadeiras, sendo cada uma com 10 m de comprimento e altura variando entre 1,5 e 4,0 m conforme a malha

(30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 mm entre-nós opostos), mas mantendo um tamanho padronizado em todas as amostragens (área de captura de 431 m² para 24 horas de coleta em cada ponto amostral, com despescas a cada 4 horas). As malhadeiras foram expostas em áreas de remansos junto à foz e à montante dos tributários em estudo.

Após as coletas, os peixes foram acondicionados dentro de sacos plásticos em caixas de isopor com gelo, devidamente etiquetados contendo as seguintes informações: código de campo, data e horário de despesca. Posteriormente foram transportados para o Laboratório de Ictiologia e Pesca da Universidade Federal de Rondônia - UNIR.

Para a captura de espécimes jovens, dificilmente capturados por malhadeiras, foi realizada pesca ativa com a utilização da rede de cerco. Essa rede tem 10m de comprimento por 5m de altura franzidos em cerca de 2 metros e malha de 6 mm entre nós opostos. Cada coleta (amostra) foi constituída por três lances consecutivos com a rede de cerco em um mesmo local, sendo preservada como uma única amostra, padronizando assim o esforço de coleta para efeitos de comparação.

As coletas com a rede de cerco foram realizadas nas praias dos afluentes do rio Madeira, com substrato de lama, e nas gamboas, ambiente de ocorrência de jovens (observação pessoal). Gamboas são praias meândricas que ficam expostas durante a vazante-seca, ao longo do canal do rio Madeira e constituídas por um mosaico de lama e áreas de pedras e seixos (Figura 3).



Figura 3: Gamboas ao longo da calha do rio Madeira no mês de agosto de 2005, período de maior registro de ocorrência dos jovens de *Pellona castelnaeana*, nas proximidades da vila Teotônio, Porto Velho, Rondônia. Foto: Gislene Torrente-Vilara.

2.4. ESCALA REPRODUTIVA

No laboratório todos os exemplares coletados nas malhadeiras foram identificados, medidos (mm) e pesados (g). O comprimento padrão (CP) foi obtido levando em consideração a ponta do focinha até a última vértebra na base da nadadeira caudal.

Posteriormente os exemplares foram seccionados ventralmente para a verificação macroscópica do sexo e do estádio de desenvolvimento gonadal. A classificação dos exemplares analisados foi baseada na escala proposta por Le Guennec & Loubens (2004), a qual considera fatores como o tamanho e volume que as gônadas ocupam na cavidade celomática, transparência, coloração, consistência, vascularização, além de no caso das fêmeas, a cor e o tamanho dos ovócitos.

Para a confirmação dos estádios gonadais, e para a verificação de uma possível ocorrência do processo de reversão sexual nos indivíduos da espécie *Pellona castelnaeana*, foi feita uma análise histológica das gônadas.

Os exemplares capturados com a rede de cerco foram acondicionados em sacos plásticos em formol 4%. Após, as amostras foram preservadas em

álcool a 70% e depositados na Coleção Ictiológica da UNIR. Todas as informações foram armazenadas em um banco de dados online (www.ictiomadeira.com.br).

2.5. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Apos a classificação macroscópica das gônadas de cada exemplar de Pellona castelnaeana capturado, elas foram coletadas separadamente, direita e esquerda, em sua porção mediana.

Os fragmentos gonadais coletados foram fixados em solução de ALFAC (Álcool 80%, Formol 40% e Ácido Acético 2% na proporção de 17:2:1, respectivamente) por 20 horas, para serem submetidas posteriormente ao processo histológico.

Após o período de fixação, as gônadas foram armazenadas em álcool 70%, desidratadas em séries crescentes de alcoóis com concentrações de, 80%, 90% e 100%; diafanizadas em xilol, incluídas em parafina e obtidos cortes em micrótomo manual nas espessuras de 7 a 10 μm, os quais foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE), e analisados em microscópio de luz. Quando necessário, as classificações macroscópicas do desenvolvimento gonadal foram corrigidas a partir da análise histológica.

Para verificar se algum exemplar encontra-se no processo de reversão sexual, foram analisadas microscopicamente gônadas de indivíduos pertencentes a todas as classes de comprimento registradas nesse estudo.

2.6. ANALISE DOS DADOS

2.6.1. Abundância

Dados sobre a abundância dos espécimes foram avaliados de acordo com a captura dos exemplares de *Pellona castelnaeana* por cada um dos pontos de coleta na bacia do rio Madeira.

2.6.2. Estrutura em comprimento

A estrutura em comprimento foi construída através da distribuição dos dados individuais de comprimento padrão dos exemplares. Os exemplares foram agrupados em classes de comprimento de 40 mm, calculando-se a freqüência absoluta (N) e a freqüência de ocorrência (FO) para cada classe, para o período total de captura, segundo a metodologia descrita por Vazzoler (1996). Os dados relativos ao comprimento padrão foram apresentados na forma de estatísticas descritivas (média, desvio padrão, valores mínimo e máximo).

2.6.3. Proporção sexual

A freqüência absoluta para fêmeas e machos foi testada para o total de exemplares capturados e para cada classe de comprimento. Para verificar se as proporções observadas equivalem à proporção esperada de 1:1 foi utilizado o teste G (Zar, 1999), com a correção de Yates (Sokal & Rohlf, 1986), através da equação:

$G = 2*_Fo*Ln(fo/fe),$

onde:

fo = freqüência observada;

fe = freqüência esperada;

Ln = logaritmo natural.

3. RESULTADOS

3.1. ABUNDÂNCIA

Durante o período de estudo foram capturados 64 exemplares de *Pellona castelnaeana* nas malhadeiras. Nenhum exemplar foi capturado com a rede de cerco. Os espécimes foram registrados em 13 dos 20 pontos estudados. As maiores capturas ocorreram no rio Machado, seguido pelo igarapé Arara e lago Sampaio (Figura 4).

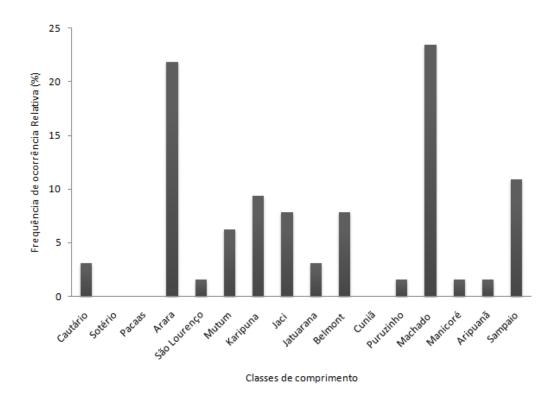


Figura 4: Abundância dos espécimes de *Pellona castelnaeana*, entre os pontos de coleta, no médio Madeira (Rondônia), no período entre Novembro de 2008 e Setembro de 2009.

3.2. ESTRUTURA EM COMPRIMENTO E PROPORÇÃO SEXUAL

Dentre os 64 exemplares de *Pellona castelnaeana* capturados nas malhadeiras, 48 eram indivíduos fêmeas, 12 machos e 4 classificados como hermafroditas.

A amplitude dos comprimentos encontrados entre os espécimes adultos de ambos os sexos de *Pellona castelnaeana* variou de 161 mm até 535 mm (\bar{x} = 316 ± S.D. 86). (Tabela 2).

Tabela 2: Número de exemplares de fêmeas, machos e hermafroditas de *Pellona castelnaeana* por classe de comprimento (40 mm).

CP (mm)	FÊMEA	MACHO	HERMAFRODITA
160 - 200	5	0	0
201 - 240	6	0	0
241 - 280	11	1	1
281 - 320	9	3	1
321 - 360	8	4	1
361 - 400	0	2	0
401 - 440	4	1	0
441 - 480	2	1	1
481 - 520	1	0	0
521 - 560	2	0	0
TOTAL	48	12	4

A amplitude de comprimentos encontrada entre as fêmeas foi de 161 mm a 535 mm, e a média foi de 307 mm. Para os machos a amplitude dos comprimentos variou entre 272 mm e 470 mm, com média de 352 mm. Entre os indivíduos hermafroditas encontrados, a amplitude de comprimento variou de 256 a 450 mm, com média de 338 mm (Figura 5).

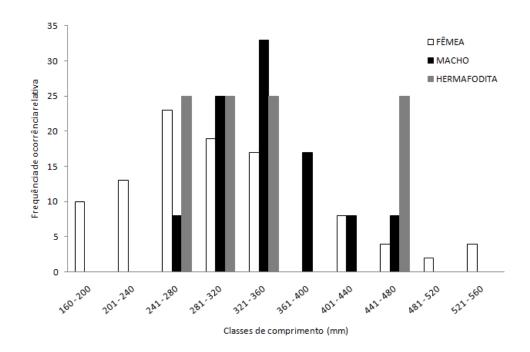


Figura 5: Freqüência de ocorrência relativa dos exemplares de *P. castelnaeana* entre as classes de comprimento padrão (mm).

Para *Pellona castelnaeana* foi constatado que o teste G mostrou diferença significativa para duas classes de comprimento: 201 - 240 mm (6 fêmeas : 0 machos, $G_{0,05} = 4,88$), 241 - 280 mm (11 fêmeas : 1 machos, $G_{0,05} = 7,59$). O teste G também mostrou diferença significativa para a amostra total (48 fêmeas : 12 machos, $G_{0.05} = 21,77$). (Tabela 3).

Tabela 3: Valores do teste G, por classe de comprimento e para a amostra total de *Pellona castelnaeana*.

CP (mm)	FÊMEAS	MACHOS	TOTAL	ESPERADO	G
160 - 200	5	0	5	2,5	3,68
201 - 240	6	0	6	3	4,88
241 - 280	11	1	12	6	7,59
281 - 320	9	3	12	6	2,15
321 - 360	8	4	12	6	0,76
361 - 400	0	2	2	1	0,52
401 - 440	4	1	5	2,5	0,82
441 - 480	2	1	3	1,5	0
481 - 520	1	0	1	0,5	0
521 - 560	2	0	2	1	0,52
TOTAL	48	12	60	30	23,13

3.3. MORFOLOGIA DAS GÔNADAS

3.3.1. Morfologia dos ovários

Os ovários de *Pellona castelnaeana* são órgãos pares, localizados na parte dorsal da cavidade celomática. O corte transversal na região mediana permite caracterizar o ovário em formato triangular e são fusionados na porção posterior, originando o oviduto. Alterações no tamanho, coloração e vascularização ocorrem de acordo com cada fase de maturação. Em todas as fêmeas analisadas, observou-se uma nítida diferença no desenvolvimento da porção esquerda e direita dos ovários, sendo a esquerda sempre maior (Figura 6).

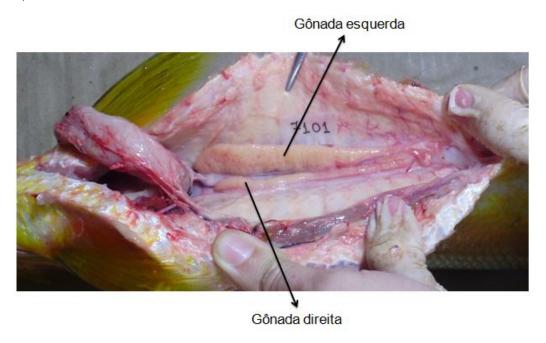


Figura 6: Exemplar fêmea de *Pellona castelnaeana*. Foto: Tiago H. S. Pires.

Microscopicamente foi possível observar abaixo de um epitélio cúbico simples, a túnica ovariana envolvendo todo ovário, a qual é formada por uma espessa camada de tecido conjuntivo. Musculatura lisa e vasos sanguíneos também foram observados. Ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento, fixados nas lamelas ovulígeras, foram registrados no lúmen do órgão (Figura 7).

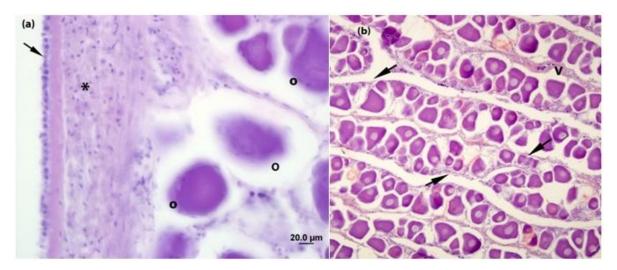


Fig. 7 (a). Corte histológico do ovário de *Pellona castelnaeana* mostrando epitélio cúbico simples (seta); tecido conjuntivo (*) e ovócitos (O). Fig. 7. (b). Corte histológico do ovário de *Pellona castelnaeana*, com ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento aderidos às lamelas ovulígeras (setas) e vaso sanguíneo (v).

3.3.2. Morfologia dos testículos

Os testículos de *P. castelnaeana* são órgãos pares, apresentam forma alongada, estendendo-se da porção anterior da cavidade celomática até a região anal, onde se apresentam unidos, formando um ducto comum que se abre no poro urogenital. A coloração e o tamanho variam de acordo com o estádio de maturação (Figura 8).



Fig. 8: Exemplar macho de Pellona castelnaeana. Foto: Tiago H. S. Pires.

As análises histológicas revelaram que os testículos apresentam-se envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo, que constitui a túnica albugínea, formada por tecido conjuntivo denso, tecido muscular liso e vasos sanguíneos. Projetando-se para o interior dos órgãos, foram observados septos de tecido conjuntivo, os quais formam os túbulos seminíferos (Figura 9). Na parte interna desses túbulos, encontram-se cistos de células da linhagem espermatogênica e as células de Sertoli. Os cistos são formados por células em fases de desenvolvimento semelhantes, as quais se modificam de acordo com a maturação testicular.

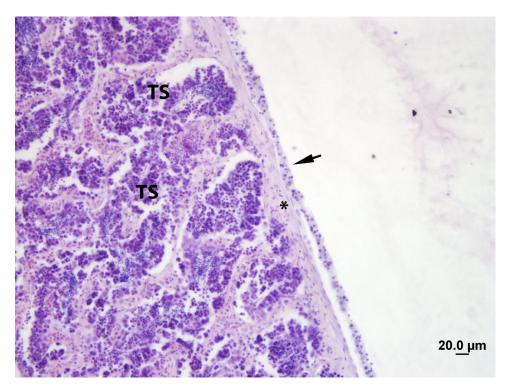


Fig. 9. Corte histológico do testículo de *Pellona castelnaeana* mostrando epitélio cúbico simples (seta); tecido conjuntivo (*) e túbulos seminíferos (TS) contendo grande quantidade de células da linhagem espermatogênica.

3.4. DESENVOLVIMENTO OVOCITÁRIO

Foram identificadas cinco fases de desenvolvimento ovocitário para Pellona castelnaeana.

Ovogônias (O_I) – Apresentam núcleo grande, central com nucléolo único, excêntrico e basófilo. Geralmente mostravam-se agrupadas em ninhos. São as menores células da linhagem ovogênica e representam a primeira fase de desenvolvimento do ovócito. (Figura 10 a).

Cromatina nucleolar (O_{II}) – são originadas das ovogônias e representam a segunda fase de desenvolvimento do ovócito. São visualizados nucléolos na zona periférica do núcleo. Diferenciam-se das ovogônias principalmente pelo tamanho da célula, e também pelo tamanho do núcleo em

relação ao citoplasma, que já se encontra bem definido. Essa fase do ovócito é encontrada em todas as fases de maturação dos ovários. (Figura 10 b).

Vitelogênese lipídica (O_{III}) - O citoplasma apresenta grandes vacúolos, que representam a deposição de vitelo lipídico. No caso de *Pellona castelnaeana* esses vacúolos lipídicos são encontrados inicialmente na posição perionuclear do citoplasma, posteriormente se posicionam em todo citoplasma. Nesta fase observou-se o surgimento da membrana vitelínica, rodeada por células foliculares, essas novas estruturas constituem o folículo ovariano. Os ovócitos em vitelogênese lipídica (O_{III}) são característicos de ovários em início de maturação. (Figura 10 c).

Vitelogênese lipídica e proteica (O_{IV}) – esta fase é caracterizada por apresentar grandes vesículas de lipídio são observadas, grânulos de proteína estão sendo depositadas no citoplasma. (Figura 10 d).

Ovócitos vitelogênicos (O_v) – Nesta fase as vesículas protéicas vão tomando maior espaço no citoplasma à medida que vão se desenvolvendo em tamanho e em número. Já vesículas lipídicas são menos evidentes. A membrana vitelínica e as células foliculares tornam -se mais evidentes (Figura 9 e). Estes ovócitos são característicos de ovários que já estão aptos para a desova. (Figura 10 f).

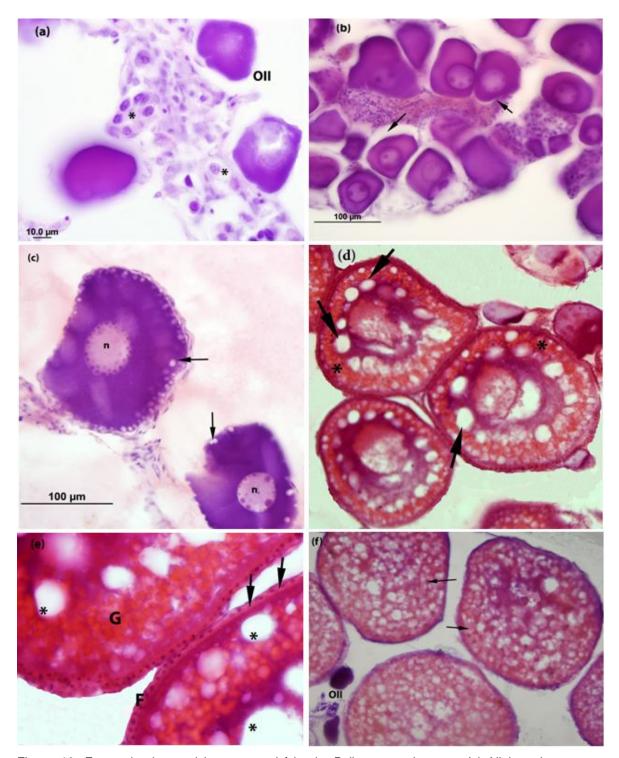


Figura 10. Fases do desenvolvimento ovocitário de *Pellona castelnaeana*. (a) Ninhos de ovogônias (*) e ovócitos cromatina nucleolar (OII). (b) Ovócitos cromatina nucleolar (setas). (c) Ovócitos em vitelogênese lipídica com vacúolos lipídicos (setas), núcleos (n) e nucléolos. (d) Ovócitos em vitelogênese lipídica e protéica com vacúolos lipídicos (setas) e grânulos de proteína (*). (e) Ovócitos em vitelogênese lipídica e protéica, membrana vitelínica (setas), células foliculares (F) com vacúolos lipídicos vacúolos lipídicos (*) e grânulos de proteína (G). (f) Ovócitos com vitelogênese total, com grande quantidade de vitelo protéico (setas) e ovócitos em fase inicial de desenvolvimento (OII).

3.5. FASES DO DESENVOLVIMENTO OVARIANO

Foram identificadas três fases de desenvolvimento gonadal ovariano para *Pellona castelnaeana*.

Imaturo – Os ovários apresentaram-se filiformes, translúcidos e sem vascularização evidente. Não foi possível a observação de ovócitos a olho nu. Histologicamente foram observados ninhos de ovogônias e ovócitos cromatina nucleolar aderidos às lamelas ovulígeras. (Figura 11 a).

Maturação - Os ovários apresentam-se em forma triangular, maiores que a fase anterior e intensamente vascularizada. Nesta fase é possível observar alguns poucos ovócitos pequenos e opacos. O oviduto é como uma lâmina em forma de tubo, transparente e vazia. Microscopicamente foram observados ovócitos nas fases de ovogônia, cromatina nucleolar e vitelogênese lipídica. (Figura 11 b).

Maduro – Nesta fase, os ovários apresentam-se túrgidos e de coloração amarelada. Ocupam grande parte da cavidade celomática, com um grande número de ovócitos grandes e visíveis a olho nu. Microscopicamente foram observados ovócitos nas fases ovogônia, cromatina nucleolar, vitelogênese lipídica e vitelogênicos. (Figura 11 b).

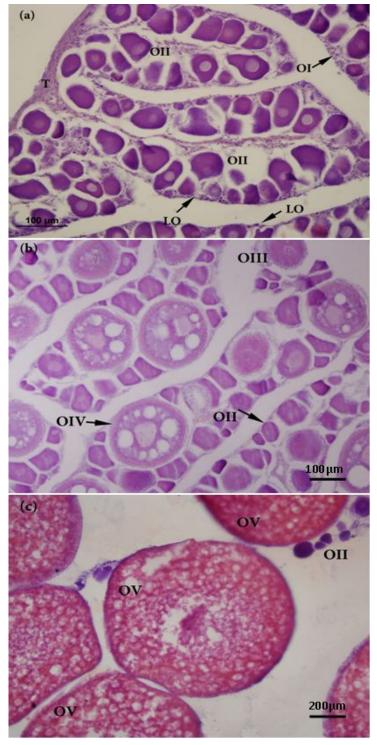


Figura 11. Fases do desenvolvimento ovariano de *Pellona castelnaeana*. (a) Ovário imaturo com ninhos de ovogônias (OI) e ovócitos cromatina nucleolar (OII) aderidos às lamelas ovulígeras (LO) e a túnica albugínea (T). (b) Ovário em maturação com ovócitos cromatina nucleolar (OII), em vitelogênese lipídica com vacúolos lipídicos (OIII), ovócitos em vitelogênese lipídica e protéica com vacúolos lipídicos e grânulos de proteína (OIV). (c) Ovário maduro com ovócitos com vitelogênese total, com grande quantidade de vitelo protéico e ovócitos em fase inicial de desenvolvimento (OII).

3.6. ESPERMATOGÊNESE

Foram identificadas quatro fases de desenvolvimento da linhagem espermatogênica para *Pellona castelnaeana*.

Espermatogônia: As espermatogônias são as maiores células da linhagem espermática, possuem um citoplasma claro e um núcleo grande. Elas ocorrem isoladamente e formam pequenos cistos. (Figura 12 a e b).

Espermatócitos: Estas células são divididas em espermatócitos primários e secundários. Espermatócitos primários são formados a partir de divisões meióticas das espermatogônias. Seu núcleo é composto por inúmeros filamentos de cromatina. Espermatócitos secundários são menores que os primários, e seu núcleo possui cromatina condensada. (Figura 12 a e b).

Espermátides: originam-se a partir dos espermatócitos secundários, mas são menores que o anterior. O citoplasma é espesso, e o núcleo é esférico e denso. Essas células sofrem intensas diferenciações até se transformarem em espermatozóides. (Figura 12).

Espermatozóides: Os espermatozóides são as menores células da linhagem espermática, possuem núcleo esférico e bastante denso. Eles se concentram no lúmen dos túbulos seminíferos. (Figura 12 a e b).

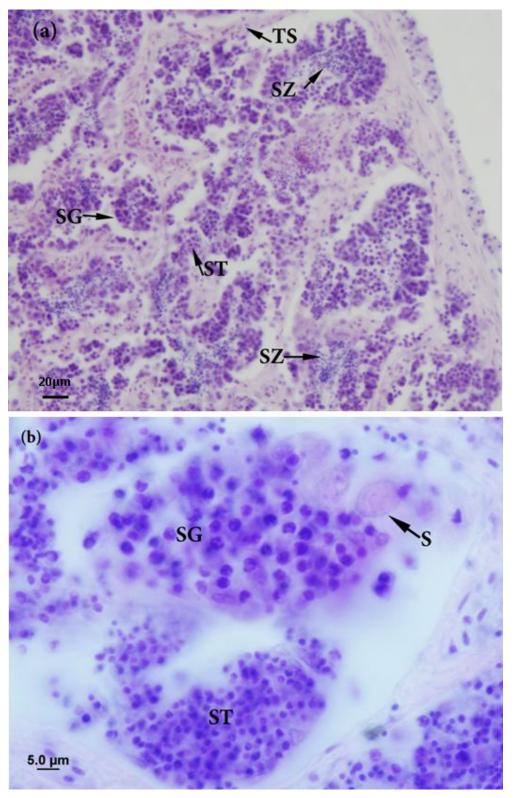


Figura 12. Testículo de *Pellona castelnaeana*. (a) Túbulo seminífero (TS); Espermatogônias (SG); Espermatócitos (ST). (b) Células de Sertoli; cistos de espermatogônias (SG) e espermatócitos (ST).

3.7. FASES DO DESENVOLVIMENTO TESTICULAR

Foram identificadas duas fases de desenvolvimento gonadal testicular para *Pellona castelnaeana*.

Imaturo - os testículos são pequenos, em forma de fita e apresentam aspecto translúcido. As análises histológicas evidenciaram túbulos seminíferos com paredes espessas e com cistos de espermatogônias aderidas a elas. Espermatócitos foram observados em menor quantidade no lúmen dos túbulos. Nessa fase ainda não são observados espermatozóides. (Figura 13).

Maturação - os testículos apresentam-se bem desenvolvidos, com um aspecto esbranquiçado e opaco. Microscopicamente, observa-se no interior dos túbulos seminíferos espermatogônias e espermatócitos. Nesta fase há o surgimento de espermátides e espermatozóides, as quais se encontram no lúmen dos túbulos. (Figura 14).

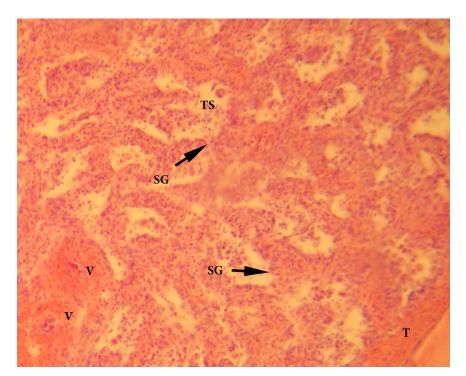


Figura 13. Testículo imaturo de *Pellona castelnaeana*. Túbulos seminíferos (TS); parede dos túbulos seminíferos (T); Espermatogônias (SG) e espermatócitos (ST).

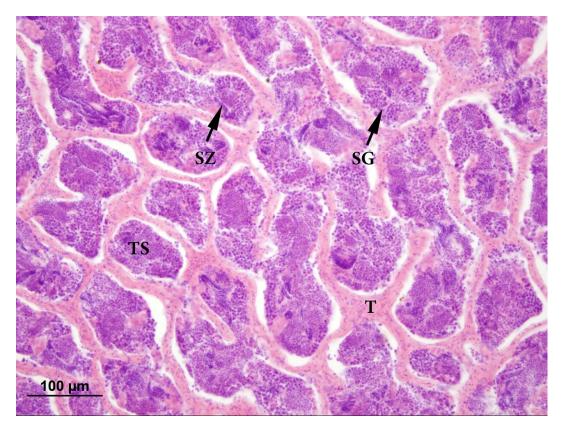


Figura 14. Testículo em maturação de *Pellona castelnaeana*. Túbulo seminífero (TS); parede dos túbulos seminíferos (T); Espermatogônias (SG) e espermatócitos (ST).

3.8. CORREÇÕES DAS ANÁLISES MACROSCÓPICAS

Após a análise histológica das gônadas dos indivíduos de *Pellona* castelnaeana foram diagnosticados erros durante as análises macroscópicas dos indivíduos.

Com relação ao erro na determinação sexual,16 dos 64 exemplares (25%), foram classificados com sexo errado. E com relação ao estádio de maturação gonadal, 30 dos 64 exemplares (47%), foram classificados incorretamente.

Estes foram todos corrigidos a partir das análises microscópicas.

3.9. HERMAFRODITISMO

Durante todo o período de estudo foram identificados quatro indivíduos de *Pellona castelnaeana* que foram reconhecidos como hermafroditas. E o processo foi visualizado de duas maneiras.

3.9.1. GÔNADAS HERMAFRODITAS

Hermafroditismo caso 1: a gônada menos desenvolvida (direita) apresentou simultaneamente em sua constituição, células da linhagem espermatogênica e ovogênica. Foram observados ninhos de espermatogônias e ovócitos em fases iniciais do desenvolvimento (Figura 15).

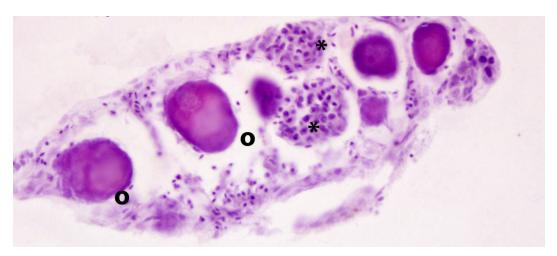


Fig.15. Corte histológico da gônada de um indivíduo hermafrodita de *Pellona castelnaeana*. Notar a presença de ninhos de espermatogônia (*) e ovócitos em fases iniciais de desenvolvimento (O).

Hermafroditismo caso 2: a gônada direita é um testículo e a gônada esquerda é um ovário. Na gônada esquerda, a mais desenvolvida, microscopicamente foram observados ovócitos em várias fases de desenvolvimento [Figura 16 (a). Por outro lado, a porção direita apresentou células da linhagem espermatogênica (Figura 16 b).

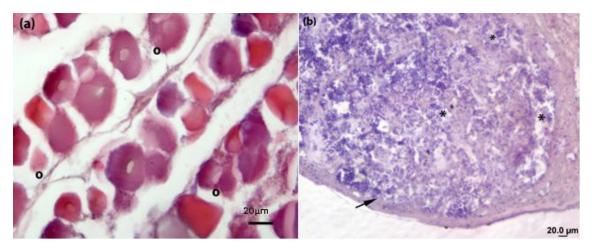


Fig. 16 (a). Corte histológico da porção ovariana da gônada de um indivíduo hermafrodita de *Pellona castelnaeana*. Notar a presença de ovócitos em fases iniciais (O). Fig. 16 (b). Corte histológico da porção testicular da gônada de um indivíduo hermafrodita de *Pellona castelnaeana*, evidenciando a presença de células da linhagem espermatogênica (*) e a túnica albugínea (seta).

O indivíduo que apresentou simultaneamente células da linhagem espermatogênica e ovogênica na gônada do lado direito apresentou 338 mm de comprimento padrão.

Já os três indivíduos que apresentaram a gônada direita como testículo e a gônada esquerda como ovário apresentaram comprimento padrão de 256 mm, 309 mm e 450 mm. (Anexo 1).

4. DISCUSSÃO

A análise morfológica dos ovários e testículos é fundamental para identificar e descrever os estágios de desenvolvimento gonadal, necessários para determinar o período de desova, fecundidade, tamanho de primeira maturação, e outros importantes parâmetros relacionados às estratégias reprodutivas das espécies de peixes (Vazzoler, 1996).

A análise histológica é essencial para a verificação do sexo e estádio de maturação gonadal das espécies íctias (Fragoso *et al.*, 2000), e constitui uma das principais etapas para o conhecimento do processo reprodutivo das espécies de peixe. A histologia é uma ferramenta importante para avaliar a saúde e reprodução dos peixes, e mostrar sinais iniciais de lesões ou alterações, dificilmente identificáveis durante a investigação macroscópica do tecido do peixe (Van Dyk, 2007).

As gônadas tanto de machos quanto de fêmeas de *Pellona castelnaeana* apresentam um padrão de coloração esbranquiçado, opaco, leitoso, o que certas vezes dificulta a sexagem macroscópica.

Assim como em outros trabalhos com *Pellona castelaneana*, como em Ikeziri *et al.* (2008), quatro indivíduos apresentaram gônadas que não se enquadraram na classificação utilizada quanto ao sexo, estes então não foram possíveis de se reconhecer o sexo macroscopicamente, o que somente foi feito microscopicamente através de análises histológicas. Nesse estudo, a histologia também se confirmou como uma importante ferramenta nos estudos de biologia reprodutiva dos peixes, uma vez que através dela foi possível verificar e corrigir altas taxas de erros cometidos nas análises macroscópicas.

Foi observado que a gônada esquerda de *Pellona castelnaeana* apresentou maior volume em todas as fêmeas analisadas. Esta diferença também foi reportada por Chaves (1992).

O resultado encontrado quanto aos hermafroditas gerou o levantamento de três hipóteses:

A primeira seria que, a porção da gônada selecionada para o corte realizado não evidenciou a presença da gônada ovotestis. Este fato

representaria que a gônada com ambos tecidos, masculino e feminino, não foi detectada devido a uma falha durante o processamento histológico.

A segunda seria que realmente uma gônada é ovário e a outra é testículo. Neste caso seria resultado inédito na literatura.

Se a segunda hipótese for verdadeira, uma terceira hipótese poderia ser levantada: a reversão sexual ocorreria primeiro na gônada de um lado (lado esquerdo) e, após totalmente revertida, o processo teria início na gônada do outro lado do corpo (gônada direita). Esta hipótese encontra apoio na literatura, onde Quillet (2004) classificou as gônadas do intersexual *Oncorhynchus mykiss* de acordo com o nível de reversão apresentada.

Gônadas foram classificadas de ovotestis quando em pelo menos uma região da gônada, o tecido de fêmea havia desaparecido completamente, e havia sido substituído por tecido de macho. Gônadas foram classificadas de testes, quando já haviam completado o processo de reversão e já apresentava tecido testicular ao longo de toda a gônada. Os exemplares foram classificados de interssexuais quando apresentavam pelo menos uma gônada como ovotestis, ou quando um ovário e um testis fossem simultaneamente observados.

Muito pouco ainda é conhecido sobre os mecanismos fisiológicos de diferenciação gonadal de espécies espontaneamente intersexuais. Fatores genéticos podem também induzir instabilidade na diferenciação gonadal (Quillet, 2004).

Nos ambientes marinhos tropicais o hermafroditismo ocorre em especial nas espécies de peixes que vivem em coral, mostrando uma diversidade de padrões que podem ser tanto seqüencial (peixes protândricos ou protogínicos) ou simultaneamente hermafroditas (Kuwamura and Nakashima, 1998).

Uma revisão da sexualidade na família Sparidae mostra que nesta família, algumas espécies são relatadas por mudarem de sexo de fêmeas para machos (protogenia), Boops boops, Chrysophrys major, Sparus caeruleosticus, outras fazem o inverso (protandria), Acanthopagrus australis, Dentex gibbosus, Lithognathus mormyrus, е muitas voltam a ter sexos separados (gonocoristicos), Boops boops, Chrysophrys major. Nas espécies Acanthopagrus cuvieri, Acanthopagrus cuvieri e Oblada melanura, é relatado hermafroditismo rudimentar, no qual peixes jovens possuem uma gônada imatura apresentando intersexualidade, mas matura como macho ou como fêmea, sem apresentar qualquer evidência de hermafroditismo. Essa condição é denominada gonocorismo tardio (Buxton & Garratt, 1990).

Estudo histológico mostrou que, mesmo espécies da família Sparidae reconhecidas como gonocorísticas na fase adulta, intersexualidade é encontrado na fase juvenil. Foi sugerido ainda que os dois estilos reprodutivos, hermafroditismo e bissexualidade, são encontrados nessa família. A bipotencialidade gonadal da família Sparid é considerada uma pré-adaptação para o desenvolvimento do hermafroditismo seqüencial em espécies as quais o sucesso reprodutivo está relacionado com o tamanho corpóreo. Nessas espécies a mudança de sexo é um estilo alternativo de reprodução que permite aos indivíduos maximizar o seu sucesso reprodutivo, funcionando como um sexo quando jovem e outro sexo quando adultos (Buxton & Garratt, 1990).

No presente estudo não foi possível confirmar hermafroditismo protândrico para *Pellona castelnaeana*, como sugerido por Le Guennec & Loubens (2004). Essa hipótese foi levantada por estes autores a partir da observação que a proporção sexual de machos e fêmeas foi se diferenciando ao longo das classes de comprimento.

Os autores notaram que entre as classes de 280 – 399 mm a proporção era de 2 machos para cada fêmea, e os machos representavam cerca de 67% para essas classes de comprimento, no entanto, à medida que os comprimentos foram aumentando a porcentagem de machos foi diminuindo, até atingir 0% de machos a partir dos 480 mm. Então, esse processo de reversão sexual aconteceria para uma parte dos machos entre os 400 e 450 mm.

Segundo Le Guennec & Loubens (2004) nenhuma mortalidade seria forte o suficiente somente para os machos e nenhuma taxa de crescimento seria tão alta somente para as fêmeas para justificar tais variações.

Hermafroditismo protândrico pode estar associado às espécies com desova total, favorecendo as fêmeas nas maiores classes de comprimento e, desta forma, produzindo uma maior quantidade de ovócitos (Ikeziri, 2008).

Segundo Blaber *et al.* (1996) que registrou o processo de hermafroditismo protândrico nas espécies *Tenualosa toli* e *Tenualosa macrura*, esse comportamento pareceu ser uma estratégia para maximizar a produção de ovócitos, uma vez que a fecundidade está relacionada diretamente com tamanho corpóreo, e peixes maiores têm taxas maiores de fecundidade.

A salema, Sarpa salpa, das ilhas canárias apresentou hermafroditismo. A presença de indivíduos com ovotestis e a predominância de machos nas menores classes de comprimento sugerem que esta espécie exibe hermafroditismo protândrico. A escassez de indivíduos com ambos tecidos ovariano e testicular desenvolvidos nas amostras indica uma fase transitória curta entre os sexos. A ausência de machos nas maiores classes de comprimento implica que a conversão sexual é essencial para todos os peixes (Vilamil, 2002).

Outro caso de hermafroditismo para a ordem Clupeiformes já foi registrado por Herrera et. al. (1991) documentando hermafroditismo sincrônico em *Sardinops sagax*. A gônada hermafrodita ocupou grande parte da cavidade abdominal, onde a porção anterior, de ambos os lados correspondeu a tecido ovariano e a porção caudal correspondeu a tecido testicular, separados por uma fina depressão transversal.

Dentro do cenário amazônico, Matos (2002) observou processo de hermafroditismo em *Satanoperca jurupari* da região estuarina do rio Amazonas. Foram detectados espermatócitos, espermátides e espermatozóide em desenvolvimento entre muitos ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento

Em sua escala reprodutiva, Le Guennec & Loubens tiveram dificuldades em diferenciar fêmeas imaturas de fêmeas em repouso sexual, agrupando todas essas fêmeas em uma só categoria na escala reprodutiva.

O levantamento da porcentagem de fêmeas, classificadas macroscopicamente como jovens ou adultas em repouso, por cada classe de comprimento demonstrou que fêmeas imaturas foram encontradas em quase todas as classes de comprimento, desde 200 mm até mais que 550 mm, semelhante ao observado no presente estudo.

O registro dessas fêmeas em todas as classes de comprimento poderia estar ligado ao processo de reversão sexual onde a reversão ocorreria em

todas as classes de comprimento, com maiores freqüências em algumas classes, supostamente em torno de 300 mm.

Durante a reversão, os machos perderiam características fisiológicas de machos (hormônios) tornando-se fêmeas imaturas durante esse processo de reversão sexual. Desta forma, a passagem de macho para fêmea imatura seria obrigatória durante a reversão sexual, sendo classificadas ou como fêmeas jovens ou adultas em repouso sexual.

O fato de três exemplares hermafroditas apresentarem histologicamente na gônada esquerda tecido classificado como fêmea jovem corroboraria essa hipótese levantada. Situação que faria parte do processo de reversão sexual deverá ser investigada detalhadamente em futuros trabalhos.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo confirmam que *Pellona* castelneana é uma espécie hermafrodita.

No entanto, não foi possível confirmar se trata-se de hermafroditismo protândrico, como sugerido por Le Guennec & Loubens (2004).

Nesse sentido sugere-se a continuidade desse trabalho com uma abordagem genética e hormonal a fim de se caracterizar o processo fisiológico relacionado ao processo de mudança sexual nesta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANEEL (2000) **Bacias Hidrográficas do Brasil.** Disponível em http://www.aneel.gov.br. Acessado em: 24/07/2009.
- BARBIERI, G.; SALLES, F. A.; CESTAROLLI, M. A. E TEIXEIRA-FILHO, A. R. Estratégias reprodutivas do dourado, *Salminus maxillosus* e do curimbatá, *Prochilodus lineatus* no Rio Mogi Guaçu, Estado de São Paulo, com ênfase nos parâmetros matemáticos da dinâmica populacional. Acta Scientiarum. Biological Sciences Maringá, v. 26, n. 2, p.169-174, 2004.
- BATISTA, V. S. & PETRERE JR., M. Characterization of the commercial fish production landed at Manaus, Amazonas State, Brazil. Acta Amazonica, v. 33, n. 1, p. 53-66, 2003.
- BERNARDI, J.V.E.; LACERDA, L.D.; DÓREA, J.G.; LANDIM, P.M.B.; GOMES, J.P.O.; ALMEIDA, R.; MANZATTO, A.G.; BASTOS, W.R. Aplicação da análise das componentes principais na ordenação dos parâmetros físico-químicos no alto rio Madeira e afluentes, Amazônia Ocidental. Geochimica Brasiliensis, v. 23, n. 1, p. 79-90, 2009.
- BLABER, S. J. M.; FRY, G.; MILTON, D. A. & VAN DER VELDE, T. **The life history of** *Tenualosa macrura* in **Sarawak, further notes on protandry in the genus and management strategies.** Fisheries Management and Ecology, v. 12, p. 201–210, 2005.
- BUXTON, C. D. & GARRATT, P. A. 1990 Alternative reproductive styles in seabreams (Pisces: Sparidae). Environmental Biology of Fishes, v. 28, p. 113-124, 1990.
- CHAN, S. T. H. AND YEUNG, W. S. B. **Sex control and sex reversal in fish under natural conditions.** In: Fish Physiology. v.3. Reproduction and Growth. eds. W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson, Academic Press, London, pp.117-175. 1969.
- CHAVES, P. T. C. **Notas sobre o dimorfismo ovariano em** *Pellona castelnaeana* (Pisces, Clupeidae) da região amazônica. Revista Unirmar, v. 14 (suplemento), 1992.
- DE QUEIROZ, L. J. Aspectos bioecológicos de duas espécies de sardinhas (*Triportheus*, COPE, 1872) em afluentes do trecho de corredeiras do rio Madeira e pesqueiros da categoria desembarcada no mercado pesqueiro de Porto Velho Rondônia. 2006.
- DORIA, C.R.C.; ARAÚJO, T.R.; TORRENTE-VILARA, G. Base Científica para o Manejo da Pesca na RESEX Estadual do Rio Cautário: Estudo

- **Reprodutivo da Ictiofauna.** Relatório técnico. Porto Velho, Ecoporé, Termonorte/Sedam. 43p. 2004.
- FRAGOSO, E.N.; SÁ, M. F. P.; FENERICH-VERANI, N. & VERANI, J.R. Reprodução de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) do Córrego da Lagoa, São Carlos/SP. II. Estrutura dos testículos e escala de maturação. CONGRESSO BRASILEIRO ZOOLOGIA, 2000, Itajaí. Resumos... Itajaí: Univali.
- GOULDING, M. **Ecologia da pesca do rio Madeira.** CNPq-INPA, Manaus, 172 pp. Amazon the flooded forest. BBC Books, London, 208 pp. 1979.
- GURGELH. C. B. Estrutura populacional e época de reprodução de *Astyanax fasciatus*, do rio Ceará Mirim, poço branco, RN. Revista brasileira de Zoologia v. 21, n. 1, p. 131-135, Março, 2004.
- HERRERA, G.; PADILLA, C.; CLARAMUNT, G.; PIZARRO, P.; GARLAND, D. Hermafroditismo sincrônico del tipo intersexo em la sardiña española, *Sardinops sagax*, Jenyns 1842 (Pisces, Clupeiformes). Revista de Biología Marina y Oceanografía, Valparaíso, v. 26, n. 1, p. 81-89, Outubro, 1991.
- IKEZIRI A. A. S. L., QUEIROZ L. J., DORIA C. R. C., FÁVARO L. F., ARAÚJO T. R., TORRENTE-VILARA G. **Estrutura populacional e abundância do Apapá Amarelo** *Pellona castelnaeana*, na reserva extrativista do rio Cautário, RO. Revista Brasileira de Zoociências, v. 10, n. 1, p. 41-50, 2008.
- ITO, L.S.; YAMASHITA, M.; TAKAHASHI, C.; AND STRÜSSMANN, C.A. Gonadal degeneration in sub-adult male pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) during exposure to warm water. Fish Physiology and Biochemistry, v. 28, p. 421–423, 2003.
- KAVANAGH, R. J.; BALCH, G. C.; KIPARISSIS, Y.; NIIMI, A. J.; SHERRY, J.; TINSON, C.; METCALFE, C.D. Endocrine disruption and altered gonadal development in white perch (*Morone Americana*) from the lower Great Lakes region. Environmental Heath perspective, v. 112, n. 28, Junho, 2004.
- KUWAMURA, T. AND NAKASHIMA, Y. **New aspects of sex change among reef fishes: recent studies in Japan.** Environmental Biology of Fishes, v. 52, p. 125-135, 1998.
- LE GUENNEC, B. & G. LOUBENS. Biologie de *Pellona castelnaeana* (Teleostei: Pristigasteridae) dans le bassin du Mamoré (Amazonie bolivienne). Ichthyological Exploration of Freshwaters, v. 15, p. 369-383, 2004.
- LEME Engenharia S.A., 2005. Estudo de Impacto Ambiental dos Aproveitamentos Hidrelétricos Santo Antônio e Jirau, Rio Madeira -

- **RO.** Capítulo IV Área de Influência Direta dos Aproveitamentos Hidrelétricos de Jirau e Santo Antônio, Tomo B, Volume 5/8, Diagnóstico Ambiental da Área de Influência Direta, Meio Biótico, Ictiofauna e Recursos Pesqueiros. Relatório 6315 RT G90 001. páginas IV-755 a IV-916, Maio/2005.
- LOUBENS, G. & AQUIM, J. L. **Sexualidad e reproduccion de los principales peces de La cuenca del rio Mamoré, Beni, Bolívia.** Informe Científico No. 5. Laboratório de Ictiologia, Casilla 109. Trinidad Bolívia. 1986.
- MATOS, E.; SANTOS, M. N. S. e AZEVEDO, C. Biflagellate spermatozoon structure of the hermaphrodite fish *Satanoperca jurupari* (Heckel, 1840) (Teleostei, Cichlidae) from the Amazon river. Brazilian Journal of Biology, v. 62(4B), p. 847-852, 2002.
- QUILLET, E., LABBE, L. AND QUEAU, I. **Asymmetry in sexual development of gonads in intersex rainbow trout.** Journal of Fish Biology, v. 64, p. 1147-1151, 2004.
- PRICE, D. J. **Genetic of sex determination in fishes a brief review.** Em "Fish reproduction, strategies and Tatics". POTTS, G. W.; WOOTON, R. J. 1984.
- REIS, R. E.; KULLADER, S. O.; FERRARIS JR., C. J. Check list of freshwater fishes of the south and central America. EDIPUCRS, Porto Alegre, 742 p, 2003.
- RODRIGUES, L. P.; QUEROL, E. & BRACCINI, M. d. C. Descrição morfohistológica do ovário de *Acestrorhynchus pantaneiro* (Menezes, 1992) (Teleostei, Characidae), em seus diferentes estádios de desenvolvimento, na bacia do rio Uruguai médio, Uruguaiana, RS. Biodiversidade Pampeana, PUCRS, Uruguaiana, v. 3, p. 11-18, 28 de dezembro de 2005.
- SÅ, M. F. P.; FRAGOSO-MOURA, E. N.; FENERICH-VERANI, N.; FERRO, D. A. M. Occurrence of Intersexuality in "Lambaris", *Astyanax scabripinnis* (Jenyns, 1842), Small Characids from the Brazilian Streams. Brazilian Archives of Biology and Technology, v.51, n.2, pp.315-322, March/April, 2008.
- SANCHES, E. G.; OLIVEIRA, I. R.; SERRALHEIRO, P. C. S. Inversão sexual da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus*. ISSN 1519 9940. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v.10, n.1, p.198-209, Janeiro/Março, 2009.
- SANTOS, R. N., ANDRADE, C. C., SANTOS, A. F. G. N., SANTOS, L. N. and ARAÚJO, F. G. **Hystological analysis of ovarian development of the**

characiform *Oligosarcus hepsetus* (cuvier, 1829) in a brazilian reservoir. Brazilian Journal of Biology., v. 65, n. 1, p. 169-177, 2005.

SANTOS, R. N.; ANDRADE, C. C.; SANTOS, L. N.; SANTOS, A. F. G. N.; ARAÚJO, F. G. **Testicular maturation of** *Oligosarcus hepsetus* (cuvier) (actinopterygii, characidae) in a brazilian tropical reservoir. Brazilian Journal of Biology, v. 66, n. 1^a, p. 143-150, 2006.

SIOLI, HARALD. Amazônia, Fundamentos da ecologia da maior região de florestas tropicais. Ed. Vozes. 3 ed. 1991.

SHIOTA, T.; ISHIMATSU, A.; AND SOYANO, K. Effects of temperature on gonadal development of mudskipper (*Periophthalmus modestus*). Fish Physiology and Biochemistry, v. 28, p. 445–446, 2003.

TARKAN A. S. Reproductive ecology of two cyprinid fishes in an oligotrophic lake near the southern limits of their distribution range. Ecology of Freshwater Fish, v. 15, p. 131–138. 2006.

TATARENKOV, A.; LIMA, S. M. Q.; TAYLOR, D. S.; AVISE, J. C. Long – term retention of self – fertilization in a fish clade. Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America, August. 2009.

TORRENTE-VILARA G., ZUANON J., AMADIO S. A and DORIA C.R. C.. Biological and ecological characteristics of *Roestes molossus* (Teleostei: Cynodontidae), a night hunting characiform fish from upper Madeira River, Brazil. Ichthyological Exploration of Freshwaters, Vol. 19, No. 2. 2004.

VAN DYKE

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

VEREGUE, A. M. L.; ORSÍ, M. L. Biolgia reprodutiva de *Astyanax* scabripinnis paranae (Eigenmann) (Ostheichthyes, Characidae) do Ribeirão das Marrecas, bacia do rio Tibagi, Paraná. Revista Brasileira de Zoologia, v. 20, n. 1, p. 97 – 105, Março 2003.

VILLAMIL, M. M.; LORENZO, J. M.; PAJUELO, J. G.; RAMOS, A. & COCA, J. Aspects of the life history of the salema, *Sarpa salpa* (Pisces, Sparidae), of the Canarian Archipelago (central-east Atlantic). Environmental Biology of Fishes, v. 63, p. 183–192, 2002.

ZAR, J.H. Bioestatistical analysis. New Jersey, Prentice Hall, 456p. 1999.

ANEXOS

Anexo 1: Comprimento padrão dos exemplares de *Pellona castelnaeana* capturados em cada mês e local, determinação macroscópica da gônadas e resultados da histologia dos cortes dos ovários e/ou testículos de cada exemplar.

CP (mm)	MACRO	MICRO		LOCAL	MÊS
		MD	ME		
161	F2	F1	F1	lg. Arara	Junho
175	F2	F1	F1	lg. Arara	Junho
188	F1	F1	F1	rio Manicore	Julho
191	IND	F1	F1	lg. São Lourenço	Dezembro
199	F2	F1	F1	lg. Arara	Dezembro
210	F1	F1	F1	Lago Sampaio	Dezembro
215	F	F1	F1	Lago Sampaio	Dezembro
220	F	F1	F1	lg. Arara	Julho
225	ND	F1	F1	Lago Sampaio	Dezembro
226	F2	F1	F1	Lago Sampaio	Dezembro
235	F	F1	F1	Lago Sampaio	Dezembro
245	F	F1	F1	lg. Karipunas	Maio
251	F2	F1	F1	lg. Arara	Dezembro
252	F2	F1	F1	lg. Arara	Abril
255	F2	F1	F1	lg. Arara	Abril
256	F5	M	F1	Rio Machado	Abril
262	F6	F1	F1	Rio Mutum	Junho
272	F1	М	М	lg. Jatuarana	Junho
272	F1	F1	F1	Lago Sampaio	Dezembro
273	IND	F2	F2	Rio Machado	Junho
276	F	F1	F1	lg. Arara	Maio
276	F2	F1	F1	lg. Arara	Maio
280	F5	F1	F1	lg. Karipunas	Maio

280	F5	F1	F1	lg. Karipunas	Maio
281	F6	F1	F1	Lago Puruzinho	Junho
286	F6	F1	F1	lg. Karipunas	Dezembro
290	F	F1	F1	lg. Karipunas	Maio
290	F	М	М	lg. Arara	Junho
292	F	М	М	Rio Cautário	Julho
295	F2	F1	F1	Rio Machado	Dezembro
295	F2	F1	F1	lg. Arara	Abril
302	F2	F1	F1	lg. Arara	Maio
303	F5	F1	F1	Rio Machado	Abril
309	E	M	F1	lg. Karipunas	Maio
318	M	М	М	Rio Jaciparaná	Maio
319	F5	F1	F1	Rio Mutumparaná	Maio
320	F2	F1	F1	Rio Mutumparaná	Agosto
321	F2	F1	F1	Rio Jaciparaná	Abril
322	F	F1	F1	lg. Arara	Maio
325	F	М	М	Rio Machado	Setembro
329	F6	F1	F1	Rio Aripuanã	Julho
333	F2	F1	F1	Rio Jaciparaná	Abril
335	F2	F1	F1	Rio Cautário	Julho
338	F2	F1 e M	F1	Rio Jaciparaná	Abril
340	F6	М	М	lg. Belmont	Abril
340	F6	М	М	lg. Belmont	Abril
342	F6	F1	F1	Rio Jaciparaná	Julho
343	F6	F1	F1	lg. Belmont	Abril
350	F6	М	М	Rio Machado	Junho
352	F6	F1	F1	Rio Mutumparaná	Junho
362	F	М	М	lg. Arara	Maio
379	F2	М	М	Rio Machado	Abril
404	F5	F1	F1	Rio Machado	Abril
410	M	F3	F3	Rio Machado	Maio
414	M	F1	F1	lg. Belmont	Abril
425	F6	М	М	Rio Machado	Abril

440	F2	F1	F1	Lago Sampaio	Dezembro
450	F4	M	F2	Rio Machado	Junho
453	F5	F1	F1	Rio Machado	Abril
470	F6	М	М	lg. Belmont	Abril
478	F2	F1	F1	Rio Machado	Julho
514	F	F2	F2	Rio Machado	Setembro
529	F6	F1	F1	Rio Machado	Abril
535	F2	F2	F2	lg. Jatuarana	Dezembro

Linhas demarcadas em cinza representam exemplares hermafroditas capturados e confirmados histologicamente durante o período de estudo.