



FERNANDO SOUZA MENDONÇA DE LIMA

**DETERMINAÇÃO DO SEXO EM BAGRE
AMERICANO (*Ictalurus punctatus*) UTILIZANDO
ENDOSCOPIA**

**LAVRAS - MG
2010**

FERNANDO SOUZA MENDONÇA DE LIMA

DETERMINAÇÃO DO SEXO EM BAGRE AMERICANO (*Ictalurus punctatus*) UTILIZANDO ENDOSCOPIA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Luis David Solis Murgas

**LAVRAS-MG
2010**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Lima, Fernando Souza Mendonça de.

Determinação do sexo em Bagre Americano (*Ictalurus punctatus*) utilizando endoscopia / Fernando Souza Mendonça de Lima. – Lavras : UFLA, 2010.

37 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Luis David Solis Murgas.

Bibliografia.

1. Peixe. 2. Gônadas. 3. Sexagem. 4. Maturação gonadal. 5. Diferenciação sexual. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 597.520436

FERNANDO SOUZA MENDONÇA DE LIMA

DETERMINAÇÃO DO SEXO EM BAGRE AMERICANO (*Ictalurus punctatus*) UTILIZANDO ENDOSCOPIA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 03 de agosto de 2010

Dra. Viviane de Oliveira Felizardo DZO-UFLA

Dra. Mônica Rodrigues Ferreira DMV-UFLA

Dra. Gilmara Junqueira Machado Pereira DZO-UFLA

Dr. Luis David Solis Murgas
Orientador

LAVRAS-MG

2010

RESUMO

A identificação precoce do sexo em peixes é um procedimento importante para o desenvolvimento de estratégias que facilitem o manejo no plantel de reprodutores. A endoscopia pode ser utilizada para essa identificação, embora em peixes seu uso ainda seja restrito. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi validar o uso do endoscópio rígido via poro urogenital para determinação do sexo do bagre americano (*Ictalurus punctatus*). O equipamento utilizado foi um endoscópio Multi-Purpose Rigid™ 30° com 2,7 mm de diâmetro e 18 cm de comprimento. Foram examinados 60 peixes com peso variando entre 86 e 1032 gramas nos quais foi introduzido o endoscópio via poro genital e logo em seguida eutanaziados para confirmação do sexo. Amostras de tecido gonadal foram coletadas para avaliação histológica do estágio de maturação e confirmação do sexo. Os resultados mostraram que dos 60 peixes examinados, 57 tiveram confirmação positiva do sexo via endoscopia, o que corresponde a 95% da amostra. Os resultados demonstram que é viável a utilização da endoscopia para determinação do sexo em bagre americano via poro genital.

Palavras-chave: Peixe. Gônadas. Sexagem.

ABSTRACT

The identification of sex in fish is an important procedure for developing strategies to facilitate the handling in the broodstock. Endoscopy can be used for this identification, although its use in fish is still restricted. Therefore, the objective was to validate the use of rigid endoscope via the urogenital pore to determine the sex of the catfish (*Ictalurus punctatus*). The equipment used was an endoscope Multi-Purpose Rigid TM 30th with 2.7 mm diameter and 18 cm in length. We examined 60 fish weighing between 86 and 1032 grams, in which the endoscope was introduced via the genital pore and then immediately euthanized to confirm the sex. Gonadal tissue samples were collected for histological assessment of maturation stage and confirmation of sex. The results showed that the 60 fish examined, 57 were confirmed positive sex by endoscopy, which is 95% of the sample. The results show that it is feasible to use endoscopy for sex determination in catfish via the genital pore.

Keywords: Fish. Gonads. Sexing.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1	Bagre americano (<i>Ictalurus punctatus</i>).....	9
2.2	Estrutura macro e microscópica dos testículos em teleósteos.....	9
2.3	Estrutura dos testículos no bagre americano.....	12
2.4	Estrutura macro e microscópica dos ovários em teleósteos	14
2.5	Estrutura dos ovários no bagre americano.....	17
2.6	Determinação do sexo em peixes via endoscopia.....	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5	CONCLUSÃO.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem uma das mais ricas e diversificadas ictiofaunas do mundo, possuindo mais de 2.000 espécies de peixes de água doce catalogadas, o que corresponderia a mais de 20% das espécies mundiais, incluídos em uma ampla variedade de formas e padrões comportamentais. O conhecimento de sua biologia é fundamental para a sua conservação, manejo e exploração. Nos peixes, o seu potencial como recurso natural, fonte de proteína, pesca predatória e a degradação ambiental faz com que o estudo de sua reprodução seja uma preocupação crescente, tanto de instituições de pesquisa como de órgãos de proteção ao meio ambiental.

Nas espécies de peixes brasileiras, principalmente as de piracema, a reprodução em cativeiro é feita utilizando-se a indução hormonal. Entretanto, o sucesso dessa técnica é dependente do hormônio utilizado e da espécie, mas, principalmente, da determinação exata do momento do início do protocolo de indução, o qual depende do estágio de maturação gonadal.

A ausência de dimorfismo sexual em várias espécies de peixes faz com que a sexagem e, posteriormente, a definição do momento exato de maturação gonadal se tornem tarefas extremamente difíceis, tornando a reprodução induzida imprecisa e muitas vezes casual. Sendo assim, é necessária à adoção de uma técnica confiável e prática.

Atualmente nas pisciculturas, a principal técnica empregada na reprodução é baseada na visualização de características externas como aumento do volume do abdômen, hiperemia e dilatação do poro urogenital. Tais técnicas, por serem subjetivas, podem variar de acordo com as características de cada espécie ou mesmo de indivíduo, resultando muitas vezes em baixa eficiência reprodutiva nas pisciculturas.

A identificação precoce do sexo em peixes é um procedimento importante para o desenvolvimento de estratégias que facilitem o manejo no plantel de reprodutores. Aliada a essa sexagem precoce, a visualização das gônadas para determinar a maturação gonadal é de suma importância para o início dos protocolos de indução hormonal.

Apesar da endoscopia não ser uma técnica nova em peixes, seu uso ainda é muito restrito no Brasil. Porém, essa técnica vem sendo bastante utilizada em vários países do mundo, principalmente para espécies ameaçadas ou naquelas em que outras técnicas se mostraram ineficazes, além de ser rápida e ter a vantagem de poder ser realizada no campo.

A utilização da endoscopia através do poro urogenital, igualmente à técnica de canulação, pode ser realizada em animais vivos, permitindo assim a visualização em tempo real das gônadas para determinação precoce do sexo e a detecção do melhor momento para aplicação de protocolos de indução hormonal.

O objetivo deste trabalho foi validar o uso do endoscópio rígido para determinação do sexo do bagre americano (*Ictalurus punctatus*) através do poro urogenital.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bagre americano (*Ictalurus punctatus*)

O bagre americano ou catfish, é um peixe da ordem Siluriformes, pertencente a família Ictaluridae, caracterizando-se por não possuir escamas, apresentar barbilhões sensitivos e ser onívoro (LEE, 1991). É um peixe originário dos Estados Unidos, encontrado nos estados do Golfo do México e do Vale do Mississipi. Encontra-se introduzido em províncias do Canadá e em todos os Estados Unidos, assim como em muitos outros países do mundo (WELLBORN, 1999). Segundo Lewis (1985), seriam necessários, pelo menos, 250 dias do ano com temperatura superior a 15,5°C para ser viabilizado o cultivo econômico deste peixe. Lovell (1989) afirma que o bagre americano pode atingir 500g de peso vivo em seis meses de cultivo, partindo de juvenis com 10 g, desde que a temperatura da água esteja sempre acima de 23°C.

Segundo Furuya e Ribeiro (1998), o bagre americano apresenta uma série de caracteres desejáveis para o cultivo, como: normalmente não se reproduzem nos viveiros, apresentam facilidades de desova pelo processo artificial, aceitam facilmente alimentação artificial, adaptam-se a variações bruscas de temperatura e aos vários sistemas de cultivo empregados na sua criação.

2.2 Estrutura macro e microscópica dos testículos em teleósteos

Os testículos dos peixes estão localizados na cavidade celomática, dorsalmente ao tubo digestivo, ventralmente ao mesonefro e ventro-lateralmente ao longo da bexiga gasosa, encontrando-se presos à parede celomática e à bexiga gasosa pelo mesórquio (ANDRADE, 1980).

Macroscopicamente, os testículos da maioria dos teleósteos estudados são órgãos pares, podendo estar parcial ou totalmente fundidos entre si. Apresentam usualmente tamanho similar entre o direito e o esquerdo e são frequentemente alongados, podendo também apresentar lobulações ou franjas (LE GAC; LOIR, 1999). Alguns Pimelodidae apresentam testículos franjados durante a atividade reprodutiva, com as células espermatogênicas em estágios assíncronos de desenvolvimento (BAZZOLI et al., 1997; LOIR et al., 1989).

Os testículos de teleósteos são constituídos de tecido conjuntivo envolvente, lóbulos ou túbulos seminíferos, ductos testiculares, células da linhagem germinativa, células de Sertoli ou císticas e tecido intersticial contendo as células intersticiais ou de Leydig (ZAIDEN, 2000). São classificados em lobular quando há a presença de um epitélio germinativo confinado em compartimentos que terminam na periferia do testículo, e em tubular anastomosado quando os compartimentos germinativos estão interconectados e formam dobras que não terminam na periferia testicular (GRIER, 1993).

Externamente, este órgão é revestido por delicada cápsula de tecido conjuntivo, a túnica albugínea, da qual partem septos fibrosos em sentido radial, delimitando os túbulos seminíferos que apresentam a mesma disposição radiada destes septos. Estes túbulos convergem para um sistema de ductos eferentes, que por sua vez desembocam no ducto espermático principal, o qual se unirá ao ducto espermático principal do outro testículo, formando um ducto único que desemboca na papila urogenital (SANTOS; BAZZOLI; SANTOS, 2001).

Em algumas famílias as células espermatogênicas estão presentes ao longo de todo o testículo, enquanto em outras famílias a região caudal contém vesículas seminais ou estruturas acessórias que não têm nenhuma atividade espermatogênica, mas podem armazenar espermatozóides (LEGENDRE; LINHART; BILLARD, 1996). Loir et al. (1989) também informam que a região

caudal do testículo de algum Siluriformes mostra uma atividade secretória, mas não armazena espermatozóides.

As células de Sertoli executam diversas funções para fornecer a sustentação e a nutrição das células espermatogênicas, além de fagocitar os espermatozóides residuais (BILLARD, 1970).

As células de Leydig dos teleósteos, como em outros animais vertebrados, têm características típicas de células esteróides secretoras, e aumenta de número durante o período de desenvolvimento gonadal (ARBUZOVA, 1995).

Quanto ao padrão de distribuição das espermatogônias, Grier et al. (1980) propuseram dois tipos básicos de testículos: os que apresentam espermatogônias em toda a extensão do túbulo, recebendo então a denominação de testículo espermatogonial irrestrito, e aqueles em que as espermatogônias estão restritas à região distal do túbulo, denominado testículo espermatogonial restrito.

Os testículos sofrem modificações ao longo do desenvolvimento do ciclo reprodutivo de acordo com o grau de maturação (DINIZ, 1997). Segundo Bazzoli (2003), ao analisar as características macroscópicas e microscópicas do testículo de peixes, observam-se cinco estágios de desenvolvimento gonadal:

- 1) Imaturo: neste estágio estão os indivíduos jovens que ainda não entraram em reprodução. Os testículos apresentam-se translúcidos e sem vascularização evidente. Microscopicamente são observadas espermatogônias primárias;
- 2) Repouso: neste estágio os testículos apresentam-se reduzidos, filiformes e translúcidos. Microscopicamente apresentam espermatogônias primárias isoladas e alguns cistos de espermatogônias secundárias e espermátócitos primários;
- 3) Maturação inicial: neste estágio os testículos apresentam-se desenvolvidos, com forma lobulada, sendo que, com certa pressão, sua membrana se rompe,

eliminando esperma leitoso, viscoso. Microscopicamente, os testículos apresentam cistos com células da linha germinativa em diferentes fases de desenvolvimento, sendo observadas espermatogônias primárias e secundárias, assim como espermatócitos primários e espermátides; no lúmen dos túbulos seminíferos observa-se uma pequena quantidade de espermatozóides;

- 4) **Maturação avançada/maduro:** nesta fase os testículos apresentam-se túrgidos, esbranquiçados, ocupando grande parte da cavidade celomática; com fraca pressão rompe-se sua membrana, fluindo esperma, menos viscoso que no estágio anterior. Microscopicamente são encontrados cistos de espermatócitos primários e de espermatogônias secundárias, apresentando os lumens dos túbulos seminíferos repletos de espermatozóides;
- 5) **Espermiado:** os testículos apresentam-se flácidos, com aspecto hemorrágico; a membrana não se rompe com fraca pressão. Microscopicamente os túbulos seminíferos encontram-se com lúmen aberto, podendo conter espermatozóides residuais e parede constituída somente de espermatogônias.

2.3 Estrutura dos testículos no bagre americano

Os testículos do bagre americano apresentam projeções digitiformes ou franjadas as quais se comunicam com os ductos espermáticos. Testículos franjados também são encontrados em vários Siluriformes incluindo Doradidae (GIESE et al., 1999), Pimelodiadae (LOIR et al., 1989) e Auchenipteridae (MEISNER et al., 2000).

O testículo do bagre americano é dividido em duas partes distintas em cor, morfologia e textura tecidual, sendo a parte anterior espermatogênica e a parte posterior glandular. Normalmente, a parte anterior espermatogênica é branca com lóbulos largos e consiste em um tecido muito macio, enquanto a

parte posterior glandular é rósea com os lóbulos muito finos e o tecido mais duro (SNEED; HOWARD, 1963).

Sneed e Howard (1963) reportaram que 3/4 da parte anterior do testículo dos Ictaluridae são espermatogênicas, enquanto que o 1/4 restante da parte posterior não contém espermatozóides, e provavelmente possui uma função secretora que não é essencial para a viabilidade das células espermáticas.

Em Siluriformes da família Pimelodidae, que também possuem essa distinção em parte espermatogênica e secretora, Santos, Bazzoli e Santos (2001) descreveram que a secreção produzida na parte posterior secretora reage positivamente ao PAS e às técnicas de ninhydrin-Schiff, que indicam a presença de glicoproteínas neutras. No testículo em descanso esta secreção é ausente, e o lúmen dos túbulos torna-se fechado. Ainda segundo Santos, Bazzoli e Santos (2001), essa secreção pode ter funções similares àquelas das vesículas seminais que ocorrem em outros grupos de teleósteos. As vesículas seminais podem produzir várias substâncias, como: glicoproteínas, hormônios esteróides, e feromônios; nas quais podem atuar aumentando o volume do sêmen, auxiliar na fecundação e até na atração das fêmeas (LAHNSTEINER et al., 1992).

Sneed e Howard (1963) afirmam que a parte anterior espermatogênica do testículo do bagre americano fica cada vez menos pigmentada, se tornando mais esbranquiçada e aumentada de volume quando se aproxima da época reprodutiva. Contudo, Edmonde, Avault Junior e Roussel (1978) informam que nenhuma diferença sazonal de pigmentação foi observada em seu estudo, apenas uma pequena variação de cor testicular existente entre indivíduos.

Guest, Avault Junior e Roussel (1976) demonstraram em seu estudo, que era possível encontrar esperma viável nos testículos do bagre americano durante todo o ano, sendo o pico de concentração espermática em julho.

2.4 Estrutura macro e microscópica dos ovários em teleósteos

Segundo Santos e Heid (1981), os ovários dos teleósteos são estruturas alongadas, globosas e pares que se situam na porção dorsal da cavidade abdominal, ventralmente ao sistema néfrico e à vesícula gasosa. Prolongam-se no sentido crânio caudal e fundem-se no terço posterior, formando uma estrutura tubular curta (oviduto) que se estende até a abertura urogenital, por onde os óvulos alcançam o meio externo.

Os ovários nos teleósteos, frequentemente são órgãos pares compostos de folículos derivados do epitélio germinal e que contêm as oogônias as quais se tornam oócitos (SELMAN; WALLACE, 1989).

Macroscopicamente, a maior parte dos teleósteos apresenta os ovários como sendo do tipo cistovariano pelo fato de possuir oviduto contínuo (HOAR, 1969).

De acordo com Wallace e Selman (1981), três tipos de desenvolvimento ovariano são descritos: 1- sincronizado: na qual todos os oócitos se desenvolvem ao mesmo tempo; 2- sincronizado: na qual dois grupos de oócitos são observados, um grupo que se desenvolve e torna-se maduro e o outro grupo permanece em um estágio previtelogênico ou descanso; 3- assíncrono: em que os oócitos estão em estágios diferentes do desenvolvimento.

Os ovários são revestidos pela túnica albugínea, constituída de tecido conjuntivo, fibras musculares lisas e vasos sanguíneos. A túnica albugínea emite septos em direção ao estroma de sustentação, formando lamelas ovulíferas, nas quais se encontram os oócitos nas diferentes fases do desenvolvimento (RODRIGUES; QUEROL; BRACCINI, 2005).

As lamelas apresentam grandes variações de tamanho, dependendo da fase do ciclo reprodutivo em que o peixe se encontra, podendo ser observados oócitos em diferentes fases de desenvolvimento, circundados por envoltórios

celulares formando folículos, estando envolvidos por delicadas membranas de tecido conjuntivo que partem do revestimento lamelar (GANECO et al., 2001).

Romagosa (1998), estudando *Brycon cephalus*, cita que a cavidade ovariana na maioria das espécies ovulíparas é formada em virtude das lamelas ovulíferas não se unirem na porção mediana. Estas lamelas sustentam as ovogônias e os oócitos, envolvidos por células foliculares e suspensos por tecido de suporte, o estroma, altamente vascularizado.

O estágio de desenvolvimento das gônadas é muito importante em programas de monitoramento e estudos reprodutivos, pois ao longo do ciclo reprodutivo o ovário sofre modificações em seu grau de maturação. Por ser um processo bastante complexo, os autores o classificam em diferentes fases (DINIZ, 1997).

Segundo Fragoso et al. (2000), a análise histológica é essencial para a verificação do sexo e estágio de maturação gonadal em peixes. E, de acordo com Bazzoli e Rizzo (1990), o conhecimento de características morfo-histológicas de estruturas do oócito constitui a etapa básica e primordial para a compreensão de reprodução natural de peixes brasileiros.

Selman e Wallace (1989) afirmam que o desenvolvimento dos ovócitos de teleósteos apresenta variações nos diferentes grupos de peixes e a determinação da dinâmica da ovogênese permite a compreensão dos processos de maturação e fertilização.

Narahara (1983) utiliza vários critérios para classificar os diferentes estágios do desenvolvimento dos ovócitos, como o tamanho da célula, a quantidade e distribuição de várias inclusões celulares, o processo da vitelogênese, a morfologia do núcleo e as camadas que envolvem os ovócitos.

Segundo Bazzoli (2003), ao analisar as características macroscópicas e microscópicas pode-se observar cinco estágios de desenvolvimento gonadal:

- 1) Imaturo: neste estágio estão os indivíduos jovens que ainda não entraram em reprodução. Os ovários apresentam tamanho reduzido, ocupando menos de 1/3 da cavidade celomática, filamentosos, translúcidos, sem sinais de vascularização e os ovócitos não são observados a olho nu. Microscopicamente são observados ovócitos na fase de ovogônia e ovócitos perinucleolar inicial, organizados em lamelas;
- 2) Repouso: neste estágio as gônadas estão com o menor tamanho registrado no ciclo, são delgadas e translúcidas, com pequena vascularização e sem ovócito perceptível. Sob microscopia, observam-se lamelas ovulíferas e predomínio de ovócitos perinucleolares. Em animais de desova total o repouso ocorre nos meses mais frios e secos do ano;
- 3) Maturação inicial: nesta fase as gônadas iniciam o processo de gametogênese e acumulam gradualmente seus produtos, fazendo aumentar seu peso; têm coloração verde-azulada e os vasos sanguíneos e ovócitos são visíveis a olho nu. Histologicamente percebe-se uma maior incidência de ovócitos vitelogênicos de tamanhos variados, perinucleolares e alvéolo-corticais, além de alguns atrésicos. A zona radiata mostra-se bastante espessa, especialmente nas porções cranial e medial do ovário;
- 4) Maturação avançada/maduro: neste estágio as papilas genitais apresentam-se avermelhadas e o ventre, especialmente das fêmeas, abaulado; as gônadas atingem seu maior peso e volume, apresentam lamelas ovulíferas completamente preenchidas por ovócitos grandes em vitelogênese e pós-vitelogênese, e ocorre a presença de reduzido número de ovócitos pré-vitelogênicos e cromatina-nucléolo. Em alguns ovócitos pós-vitelogênicos observa-se vesícula germinal sub-periférica em direção à micrópila. Em animais de desova total o estágio maduro é alcançado nos meses de verão;
- 5) Desovado: corresponde ao período que se segue à reprodução; em consequência da eliminação dos gametas, as gônadas estão reduzidas em

tamanho, flácidas e sanguinolentas e com ovócitos visíveis a olho nu. Microscopicamente ocorre a presença de muitos ovócitos perinucleolares e alguns ovócitos atresícos nas lamelas ovulíferas. Ocorre intensa reorganização das gônadas que, em breve, estarão em repouso.

2.5 Estrutura dos ovários no bagre americano

Os ovários do bagre americano são estruturas tubulares alongadas emparelhadas, encobertas por um tecido conectivo e com uma musculatura lisa considerável na parede de ovário maduro. O bagre americano possui reprodução anual e o desenvolvimento ovariano é sincronizado ocorrendo um evento ovulatório todos os anos (SILVERSTEIN; SMALL, 2004).

Os ovários, como os testículos, unem-se ao rim e à bexiga gasosa por tecidos mesentéricos. O ovário é oco e o lúmen se conecta ao oviduto que termina no poro genital (GRIZZLE, 1985).

Os tecidos que cercam o lúmen ovariano consistem em folhas lamelares preenchidas com oócitos. Para a maturação o oócito primário submete-se a mudanças, iniciando como oócito vitelogênico, oócito secundário, e finalmente oócito amadurecido. Uma oogonia tem inicialmente 12 a 15 micrômetros de diâmetro e em um oócito do bagre americano pode ter de 2 a 3 milímetros de diâmetro na ovulação. Este aumento no tamanho é atribuível principalmente à acumulação de proteínas pelo vitelo (SILVERSTEIN; SMALL, 2004).

2.6 Determinação do sexo em peixes via endoscopia

A ausência de dimorfismo sexual em várias espécies de peixes faz com que a sexagem se torne uma tarefa extremamente difícil e muitas vezes demorada, principalmente em peixes que só alcançam a maturidade sexual após

vários anos, pois ainda não desenvolveram suas características sexuais secundárias (ORTERNBURGER; JANSEN; WHYTE, 1996).

Características externas que indicam o sexo ou a maturidade não são consistentes em salmonídeos, particularmente antes dos estados avançados de desenvolvimento gonadal (MARTIN; LONG; PEARSONS, 1995).

Mesmo os adultos de algumas espécies, tais como o milk fish e o Arctic chaff (*Salvelinus alpinus*), não possuem diferenças perceptíveis consistentes dos caracteres sexuais externos. Sem tais características externas, os peixes têm que ser eutanaziados para se saber o sexo e o estágio de maturação gonadal (MEYER et al., 2003).

Segundo Okuzawa (2002), nos peixes, como em outros vertebrados, os mecanismos intrínsecos à puberdade, especialmente o seu início, não são compreendidos inteiramente. Estes mecanismos provavelmente são diferentes entre as espécies de teleósteos, os quais constituem o maior táxon entre os vertebrados.

Uma melhor compreensão da puberdade, quando ela é alcançada e do seu controle nos teleósteos é de grande importância (GOOS, 1993). Por isso, técnicas que possibilitem a diferenciação sexual precoce e a indicação da maturação gonadal dos reprodutores podem propiciar aos produtores melhores técnicas de manejo para os diferentes sexos, podendo assim levar a uma economia de tempo e dinheiro na produção de alevinos.

A habilidade de identificar o sexo e o grau de maturação gonadal nos peixes é útil tanto para manejar populações de peixes selvagens, assim como naqueles criados em cativeiro para a produção de alimentos, aumento de estoques naturais, projetos de pesquisa, ou apenas para exposição pública (HURVITZ et al., 2007).

Diversos métodos têm sido descritos até agora para determinar o sexo e o estágio de desenvolvimento gonadal em esturjões. O mais comum e tradicional

é anestesiá-los os peixes e fazer uma incisão de 3 a 4 cm no abdômen, através da qual, pela endoscopia, podem ser inspecionadas as gônadas. Após o exame, a incisão é suturada e desinfetada (HURVITZ et al., 2007).

Outro método para acessar as gônadas de peixes é a biópsia com o auxílio de um “trocar”. O trocar é uma haste de metal afiada de 50 milímetros de comprimento e com um sulco de aproximadamente 3 milímetros na ponta. O trocar é introduzido através da parede abdominal até a gônada e o tecido gonadal é coletado no sulco através de rotação. Este método, embora eficiente na inspeção de estágios avançados de vitelogênese ou de machos maduros, é problemático em estágios mais novos, no qual apenas gordura é coletada e repetidas coletas de amostras são necessárias (HURVITZ et al., 2007).

O otoscópio (equipamento médico utilizado para observar o interior do ouvido) e os endoscópios já foram utilizados com sucesso como um método não letal para determinar o sexo e a maturidade dos peixes, incluindo o Char do Ártico *Salvelinus alpinus* (ORTENBURGER; JANSEN; WHYTE, 1996), e esturjões *Scaphirhynchus platyrhynchus* (WILDHABER et al., 2005).

O uso do boroscópio (endoscópio) através do poro urogenital para sexagem e determinar o estágio de maturidade dos oócitos em esturjão foi descrito por Kynard e Kieffer (2002). Este método, embora não cause danos aos órgãos reprodutivos dos peixes e seja bem sucedido em identificar estágios avançados de maturação, não foi preciso para esturjões novos e imaturos.

Hernandez-Divers et al. (2004) descreveram o uso da endoscopia para a determinação de sexo, biópsia gonadal, ovariectomia e orquiectomia bilateral em esturjão do golfo do México (*Acipenser oxyrinchus*).

Em seus estudos, Hurvitz et al. (2007) indicaram que a endoscopia, via incisão lateral da cavidade abdominal do peixe, é um eficiente método tanto para sexagem precoce dos peixes sem dimorfismo sexual, como para determinação do desenvolvimento gonadal dos esturjões criados em cativeiro. A visualização

das gônadas intactas e por inteiro em peixes anestesiados se revela uma importante fonte de informação em pesquisa e manejo com um mínimo de dano ou estresse do peixe.

Em alguns casos, as endoscopias ou biópsias gonadais em animais anestesiados permitem a identificação do sexo, mesmo fora da época de reprodução ou em peixes imaturos (BRYAN et al., 2007; SWENSON et al., 2007).

Trabalho realizado por Wildhaber et al. (2005) analisou a eficácia do ultrassom e endoscopia para determinar o sexo e a maturação gonadal do esturjão. Concluiu-se que o sucesso dos métodos era dependente de sua invasividade. O método menos invasivo (ultrassom) era o menos eficaz, enquanto que o mais invasivo (endoscopia através de uma incisão abdominal) era o mais eficaz.

O uso de ultrassom para sexar e determinar o estágio gonadal em esturjões tem a vantagem de ser um sistema não invasivo. Porém, o uso do ultrassom exige um alto grau de experiência a fim de analisar as imagens, e quanto mais jovens forem os peixes, a sua acurácia diminui (WILDHABER et al., 2005).

Ao contrário do ultrassom, a endoscopia permite uma observação direta da cor da gônada, tamanho e distribuição e, assim, permite uma melhor avaliação de seu estágio de desenvolvimento. A endoscopia já é usada na medicina veterinária para examinar órgãos internos de peixes via inserção do instrumental na cavidade corporal através de uma pequena incisão (WILDHABER et al., 2005) ou através do poro urogenital (ORTENBURGER; JANSEN; WHYTE, 1996).

Segundo Ortenburger, Jansen e Whyte (1996), estudos-piloto revelaram que o endoscópio poderia com segurança ser introduzido através do poro urogenital, evitando a necessidade de incisão cirúrgica. A técnica tem a

vantagem da avaliação não letal da identificação do sexo e da maturação gonadal.

Kynard e Kieffer (2002) descrevem que para estudos de campo da biologia reprodutiva e telemetria dos esturjões *Acipenser brevirostrum* é necessário determinar o sexo e a maturidade gonadal dos peixes. Portanto, eles utilizaram o boroscópio (endoscópio) via poro urogenital por tal técnica ter como características: (1) não causar lesão às estruturas reprodutivas dos peixes; (2) utilização em campo em alguns minutos; (3) utilização em qualquer condição de tempo; (4) possibilidade de distinguir ovócitos que irão ficar maduros na próxima estação reprodutiva; (5) pode ser facilmente ensinado a técnicos de campo; e (6) ser disponível.

Assim, a endoscopia via poro urogenital, além de ser uma ferramenta segura e precisa para estudos da biologia reprodutiva em peixes no campo, pode ser utilizada em pisciculturas para determinar o sexo e o estágio de maturação gonadal em várias espécies de peixes, como demonstrado para o *Ictalurus punctatus* neste trabalho, auxiliando assim programas de reprodução e produção de alevinos (KYNARD; KIEFFER, 2002).

Ainda segundo Kynard e Kieffer (2002), utilizando telemetria, a visualização das gônadas com a posterior identificação de fêmeas foi realizada com sucesso por endoscópio rígido via poro genital em duas espécies de peixes brasileiros de piracema, a curimba *Prochilodus spp.* e o surubim *Pseudoplatystoma coruscans*.

Para Swenson et al. (2007), o endoscópio é uma ferramenta útil para identificar o sexo e a maturidade gonadal da truta small brook (*Salvelinus fontinalis*), e o uso bem sucedido da endoscopia para identificação do sexo também foi relatado para um não esturjão, o “Artic charr” (*Salvelinus alpinus*).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na estação de piscicultura da Universidade Federal de Lavras – UFLA, no mês de maio de 2009. Foram utilizados 60 exemplares de bagre americano (*Ictalurus punctatus*) com peso que variou de 86 a 1032 gramas. Os peixes se encontravam, desde 2006, em um tanque rede dentro de um tanque escavado de 40 m² e recebiam ração comercial *ad libitum*.

Cada peixe foi retirado do tanque rede e posteriormente colocado em balde para imediatamente ser conduzido até a sala de necropsia da estação de piscicultura. Com um auxiliar, o peixe foi contido fisicamente e foi introduzido o endoscópio via poro genital para visualização das gônadas via imagem no computador.

O equipamento utilizado foi um endoscópio rígido Karl Storz Multi-Purpose Rigid™ 30° com 2,7 mm de diâmetro e 18 cm de comprimento, acoplado a uma camisa endoscópica de 5 mm para insuflação com soro fisiológico estéril, além de cabo de fibra ótica e fonte de luz alógena de 150 Watts (Figuras 1 e 2). Para visualização e gravação das imagens no notebook, foi acoplado ao endoscópio uma micro câmera MedCam ligada a uma placa de captura de imagens Dazzle Pinnacle™.

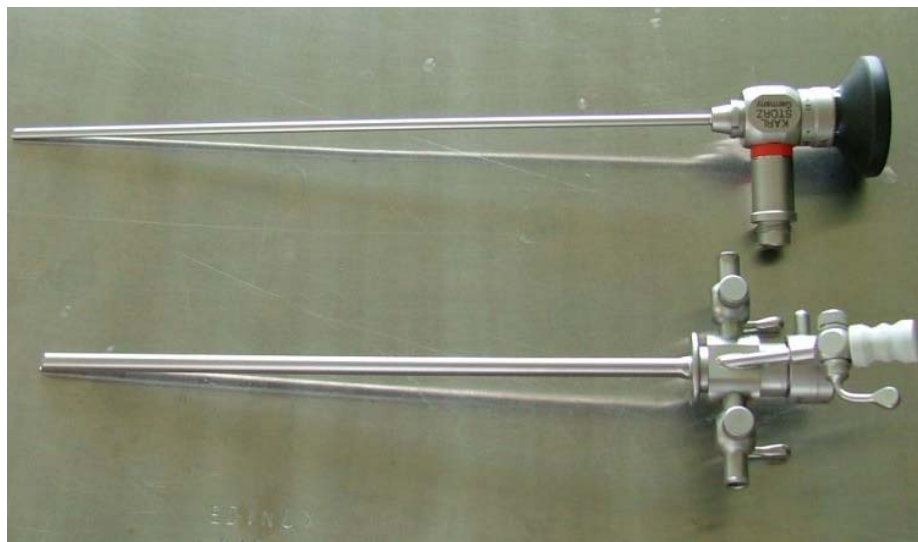


Figura 1 Endoscópio rígido Karl Storz Multi-Purpose Rigid™ 30° e camisa endoscópica para insuflação com soro fisiológico estéril



Figura 2 Endoscópio rígido inserido na camisa endoscópica e conectado à micro câmera, cabo de fibra ótica e equipo para insuflação com soro fisiológico

A técnica consistiu em identificar as gônadas e suas características como coloração, tamanho e vascularização. As fêmeas foram caracterizadas com a visualização de ovócitos, sendo então as gônadas classificados como imaturos

ou maduros de acordo com Vazzoler (1996), já a caracterização dos machos era feita pela visualização das projeções digitiformes dos testículos através da parede translúcida do canal espermático.

Após o exame endoscópico, os peixes foram insensibilizados com gelo e logo após eutanasiados para dissecação. Todos os peixes foram pesados com balança eletrônica e feita a biometria para comprimento total e comprimento padrão. Na dissecação, foi realizada a visualização das gônadas para comparar com as imagens geradas através do endoscópio. Amostras de tecido gonadal foram coletadas para posterior confirmação dos sexo dos animais e estágio de maturação.

Para confirmação do sexo e estágio de maturação, as amostras das gônadas de cada peixe foram fixadas em Solução de Bouin por 12 a 14 horas, e logo depois armazenadas em álcool 70% para posterior processamento pelas técnicas histológicas de rotina no Departamento de Patologia Veterinária da UFLA. O estudo histológico das lâminas foi realizado em microscópio óptico com aumento de 400 vezes.

Os estádios de maturação foram determinados de acordo com as características histológicas das gônadas seguindo a escala de desenvolvimento gonadal estabelecido por Bazzoli (2003): repouso, maturação inicial, maturação avançada/maduro e desovado/espermiado.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Através da imagem gerada das gônadas, pelo exame endoscópico (Figura 3), foi possível identificar no interior do ovário das fêmeas a presença de ovócitos e suas características, como cor, tamanho e ausência de vascularização. Já nos machos, a visualização das projeções digitiformes era realizada através da parede translúcida do canal espermático (Figura 4), pois esta espécie possui testículos do tipo franjado, não possibilitando a inserção mais profunda do endoscópio.



Figura 3 Inserção do endoscópio rígido via poro urogenital para visualização das gônadas

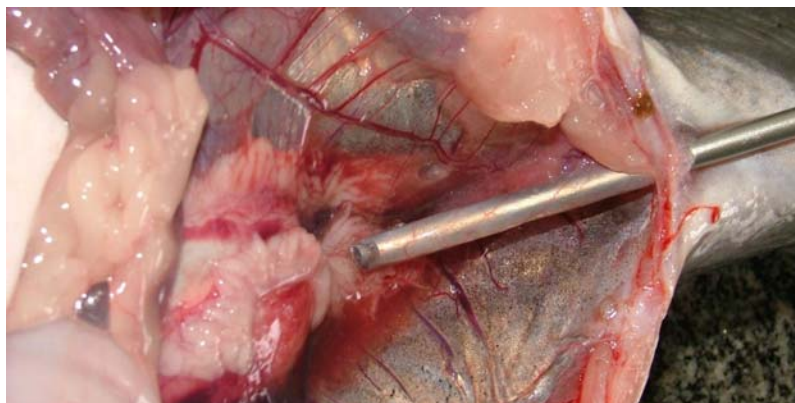


Figura 4 Visualização interna de como é feita a imagem através da parede translúcida do canal espermático em machos.

O exame endoscópico nas fêmeas era extremamente fácil, não importando o tamanho do peixe, mas nos machos, principalmente os que se encontravam com menos de 30 cm, a introdução do endoscópio só foi possível sem a utilização da camisa endoscópica, o que tornava a visualização um pouco mais difícil, pois não se podia fazer a insuflação com soro fisiológico estéril. Resultado semelhante foi descrito por Ortenburger, Jansen e Whyte (1996).

Dos 60 peixes examinados utilizando a endoscopia via poro urogenital e confirmados via histologia das gônadas, fez-se uma correta classificação do sexo em 95% ($n=57$) dos animais (Tabela 1). Resultado semelhante, utilizando a mesma técnica, foi encontrado em outras espécies de peixes por Kynard e Kieffer (2002) e Ortenburger, Jansen e Whyte (1996).

Tabela 1 Acurácia da endoscopia para sexagem do bagre americano comparado com corte histológico das gônadas para confirmação do sexo.

Sexo	Endoscopia	Avaliação histológica
Macho	22	25
Fêmea	35	35
Indeterminado	3	0
Total	60	60

A não identificação do sexo em três peixes machos pode ser atribuída ao pequeno tamanho dos exemplares, sendo classificados como indeterminado. Em seu trabalho, Ortenburger, Jansen e Whyte (1996) atribuíram para a não identificação do sexo em alguns peixes o fato de ocorrer uma ruptura acidental do ducto espermático em alguns machos após a inserção do endoscópio; tal situação poderia ter ocorrido neste estudo.

Alves e Sawaya (1975) afirmaram que o estágio de desenvolvimento gonadal imaturo pode apresentar macroscopicamente gônadas indiferenciadas, enquanto Agostinho, Narahara e Godinho (1982) informaram serem as gônadas masculinas e femininas perfeitamente distinguíveis a olho nu em todos os estádios de desenvolvimento. Como neste trabalho todas as fêmeas se encontravam em estágio avançado de maturação gonadal e todos os machos encontravam-se espermiados, seriam necessários mais estudos utilizando esta técnica em outras fases do ciclo reprodutivo do *Ictalurus punctatus* para determinar se seria possível a utilização desta técnica para sexar animais imaturos.

No exame histológico dos machos do *Ictalurus punctatus* os testículos se apresentavam revestidos pela túnica albugínea, camada de tecido conjuntivo fibroso que emite septos para o interior dos mesmos, separando e sustentando os túbulos seminíferos, sendo que todas as lâminas apresentavam com lume aberto e com presença, em algumas lâminas, de espermatozóides residuais e parede

constituída de espermatogônias, característico de testículos espermiados segundo Bazzoli (2003).

Já no exame histológico das fêmeas do *Ictalurus punctatus* os ovários se apresentavam revestidos pela túnica albugínea formando lamelas ovulíferas, sendo que em todas as lâminas observou-se a presença de ovócitos com glóbulos de vitelo ocupando quase todo o citoplasma e com reduzido número de ovócitos pré-vitelogênicos, o que caracteriza fêmeas em estado de maturação avançada, segundo Bazzoli (2003).

Para caracterizar as fêmeas, as imagens geradas após a inserção do endoscópio pelo poro urogenital, pode-se observar numerosas estruturas cilíndricas de coloração amarelo vivo sem a presença de vascularização e portanto, caracterizados como ovócitos maduros (Figura 5). Já para os machos, pode-se visualizar, através da parede translúcida do ducto espermático, projeções digitiformes de coloração esbranquiçada, caracterizando-os apenas como machos (Figura 6).

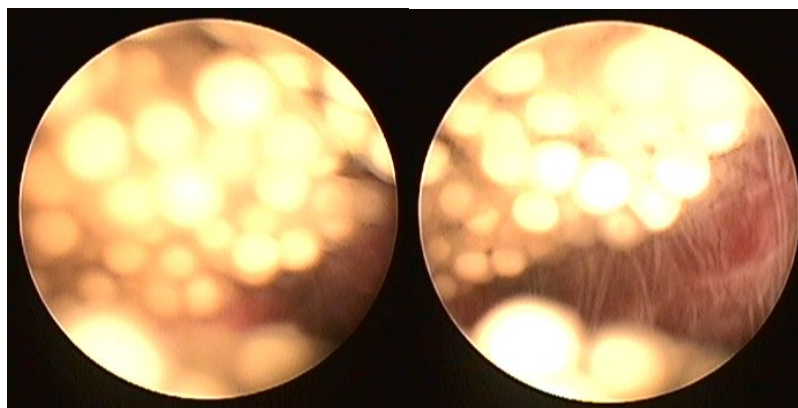


Figura 5 Imagem gerada pela endoscopia da fêmea na qual se pode observar ovócitos de coloração amarelo e sem presença de vascularização.

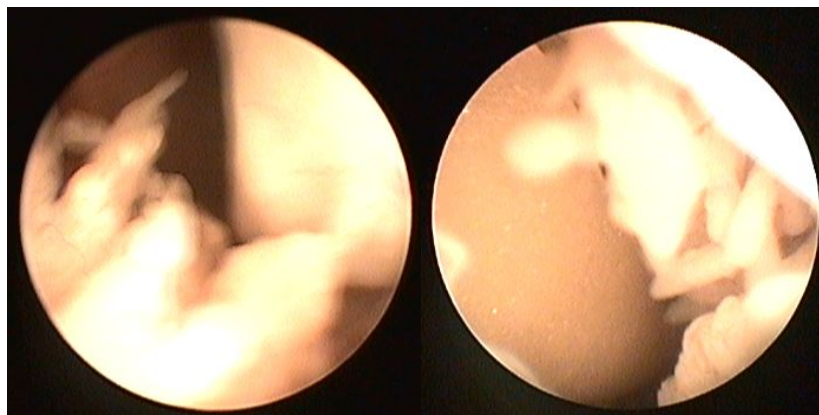


Figura 6 Imagem gerada pela endoscopia do macho na qual observam-se as projeções digitiformes ou franjas dos testículos.

Dos 60 peixes examinados, 25 foram machos e 35 fêmeas, todos confirmados via visualização de corte histológico das gônadas (Gráfico 1). Entre os machos examinados o menor peixe apresentou comprimento total de 22,2 cm e o maior 44,7 cm, e o peso variou de 108 g à 1032 g. Entre as fêmeas examinadas, o menor peixe apresentou comprimento total de 20 cm e o maior 40,4 cm, e o peso variou de 86 g à 810 g. Em relação ao estágio de maturação das gônadas, todas as fêmeas encontravam-se em estágio avançado enquanto que todos os machos encontravam-se em estágio espermiado.

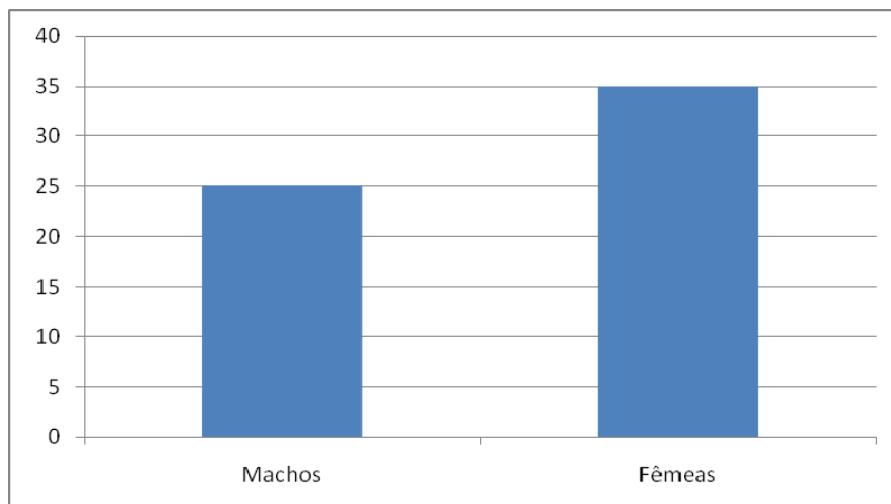


Gráfico 1 Número de machos e fêmeas de *Ictalurus punctatus* examinados no experimento e confirmados via corte histológico das gônadas.

As características morfológicas dos testículos do *I. punctatus* observadas são semelhantes às descritas por Sneed e Howard (1963), se apresentando como órgãos pares e digitiformes (Figura 7).

O ovário do *Ictalurus punctatus*, igualmente como descrito por Silverstein e Small (2004), é oco e o lúmen se conecta ao oviduto. Os ovários, como os testículos, estão anatomicamente relacionados cranialmente com a bexiga gasosa e caudalmente com os rins, além de unirem-se ao rim e à bexiga gasosa por tecidos mesentéricos. Ambas as gônadas terminam no poro genital.



Figura 7 Testículo do *Ictalurus punctatus* com suas projeções digitiformes ou franjadas.

5 CONCLUSÃO

Tanto o equipamento quanto a técnica empregada se mostraram eficientes para visualização das gônadas e determinação do sexo, e sua classificação quanto ao estágio de maturação gonadal em fêmeas maduras.

REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A.; NARAHARA, M. Y.; GODINHO, H. M. Morfologia dos ovários de *Plecostomus commersonii* (Valenciennes, 1840) Osteichthyes - Loricariidae: desenvolvimento dos ovócitos e escala de maturidade. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 1, p. 71-77, mar. 1982.

ALVES, M. J. M.; SAWAYA, P. Sobre a reprodução da sardinha-bandeira, *Opisthonema oglinum* (Le Seuer) na costa do estado do Ceará, Brasil. **Arquivo de Ciência do Mar**, Fortaleza, v. 15, p. 19-28, 1975.

ANDRADE, D. R. **Variação cíclica anual da espermatogênese em *Leporinus silvestrii* (Boulenger, 1902) peixe teleósteo**. 1980. 87 f. Dissertação (Mestrado em Morfologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1980.

ARBUZOVA, L. L. Morphofunctional characteristics of the Leydig cells in the testes of the humpback salmon *Oncorhynchus gorbusha* during spawning migration. **Morphologia**, Saint Petersburg, v. 108, n. 3, p. 72-74, Sept. 1995.

BAZZOLI, N. **Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora**: águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte: PUC Minas; CNPq-PADCT, 2003. v. 1, 306 p.

BAZZOLI, N. et al. Reprodução e desova de mandis *Pimelodus maculatus* e *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) nos reservatórios de Furnas, Marimondo e Itumbiara. **Bios**, Belo Horizonte, v. 5, n. 1, p. 7-15, 1997.

BAZZOLI, N.; RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of the oogenesis in the tem Brazillian teleost fish specie. **European Archivess of Biology**, New Jersey, v. 101, n. 4, p. 399-410, Aug. 1990.

BILLARD, R. La spermatogenese de *Poecilia reticulata*: III., ultrastructure des cellules de Sertoli. **Animal Biology**, Palermo, v. 10, n. 1, p. 37-50, 1970.

BRYAN, J. L. et al. Estimation of gonad volume, fecundity, and reproductive stage of shovelnose sturgeon using sonography and endoscopy with application to the endangered pallid sturgeon. **Journal of Applied Ichthyology**, Tokyo, v. 23, n. 4, p. 411-419, Aug. 2007.

DINIZ, C. C. **Dinâmica reprodutiva de *Leporinus striatus* e histologia do ovário de cinco espécies do gênero *Leporinus* spix 1829 (Osteichthyes, Characiformes, Anostomidae) na represa de Camargos, MG.** 1997. 69 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

EDMONDE, J. J.; AVAULT JUNIOR, J. W.; ROUSSEL, J. D. Testicular and spermatozoal characteristics of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, outside the spawning season. **Transactions of the American Fisheries Society**, Louisiana, v. 107, n. 2, p. 309-315, Mar. 1978.

FRAGOSO, E. N. et al. Reprodução de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) do Córrego da Lagoa, São Carlos/SP: II., estrutura dos testículos e escala de maturação. In: CONGRESSO BRASILEIRO ZOOLOGIA, 3., 2000, Itajaí. **Resumos...** Itajaí: UNIVALI, 2000. 1 CD-ROM.

FURUYA, W. M.; RIBEIRO, R. P. **Criação de espécies nativas e criação de espécies exóticas.** Maringá: FADEC-UEM, 1998. 92 p.

GANECO, L. N. et al. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, durante o ciclo reprodutivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 131-138, nov. 2001.

GIESE, E. G. et al. Anatomia e histologia do testículo de *Lithodoras dorsalis* (Doradidae, Siluriformes). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, 13., 1999, São Carlos. **Resumos...** São Carlos: UFSCAR, 1999. p. 404.

GOOS, H. J. T. Pubertal development: big questions, small answers. In: _____. **Cellular communication in reproduction.** Bristol: Facchinetti, 1993. p. 11-20.

GRIER, H. J. **Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier.** Clearwater: Cache River, 1993. 739 p.

GRIER, H. J. et al. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. **American Journal of Anatomy**, Philadelphia, v. 159, n. 3, p. 331-345, Nov. 1980.

GRIZZLE, J. M. **Reproductive biology.** Amsterdam: Elsevier, 1985. 282 p.

GUEST, W. C.; AVAULT JUNIOR, J. W.; ROUSSEL, E. J. D. A spermatology study of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Transactions of the American Fisheries Society**, Louisiana, v. 105, n. 3, p. 469-474, May 1976.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J. et al. Endoscopic sex determination and gonadal manipulation in Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). **Journal of Zoology**, Rockville, v. 35, n. 4, p. 459-470, Dec. 2004.

HOAR, W. S. **Reproduction**: fish physiology. London: Academic, 1969. 72 p.

HURVITZ, A. et al. Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 270, n. 1/4, p. 158-166, Jan. 2007.

KYNARD, B.; KIEFFER, M. Use of a borescope to determine the sex and egg maturity stage of sturgeons and the effect of borescope use on reproductive structures. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 18, n. 4/6, p. 505-508, Dec. 2002.

LAHNSTEINER, F. et al. The seminal vesicles of the male grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae). **Zoomorphology**, Berlin, v. 111, n. 4, p. 239-248, 1992.

LE GAC, F.; LOIR, M. Male reproductive system fish. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. (Ed.). **Encyclopedia of reproduction**. San Diego: Academic, 1999. v. 3, p. 20-30.

LEE, J. S. **Commercial catfish farming**. Illinois: Interstate, 1991. 330 p.

LEGENDRE, M.; LINHART, O.; BILLARD, R. Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. **Aquatic Living Resources**, Paris, v. 9, n. 1, p. 59-80, 1996.

LEWIS, G. W. **Channel catfish production in ponds**. Athens: University of Georgia, 1985. 14 p.

LOIR, M. et al. Comparative study of the male reproductive tract in seven families of South-American catfishes. **Aquatic Living Resources**, Paris, v. 2, n. 1, p. 45-56, Jan./Mar. 1989.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. New York: V. N. Reinhold, 1989. 260 p.

MARTIN, S. W.; LONG, J. A.; PEARSONS, T. N. Comparison of survival, gonad development, and growth between rainbow trout with and without surgically implanted dummy radio transmitters. **North American Journal of Fisheries Management**, Grosvenor, v. 15, n. 2, p. 494-498, May 1995.

MEISNER, A. D. et al. Morphology and histology of the male reproductive system in two species of internally inseminating South American-catfishes, *Trachelypterus lucenai* and *T. galeatus* (Teleostei: Auchenipteridae). **Journal of Morphology**, New York, v. 246, n. 2, p. 131-141, Apr. 2000.

MEYER, K. A. et al. Reproductive demographics and factors that influence length at sexual maturity of *Yellowstone cutthroat* trout in Idaho. **Transactions of the American Fisheries Society**, Louisiana, v. 132, n. 2, p. 183-195, June 2003.

NARAHARA, M. Y. **Estrutura da população e reprodução de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1940) (Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae)**. 1983. 220 p. Tese (Doutorado em Biociências) - Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo, 1983.

OKUZAWA, K. Puberty in teleosts. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 31-41, Feb. 2002.

ORTENBURGER, A. I.; JANSEN, M. E.; WHYTE, S. K. Nonsurgical videolaproscopy for determination of reproductive status of the *Arctic charr*. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 37, n. 1, p. 96-100, Feb. 1996.

RODRIGUES, L. P.; QUEROL, E.; BRACCINI, M. D. C. Descrição morfo-histológica do ovário de *Acestrorhynchus pantaneiro* (Menezes, 1992) (Teleostei, Characidae), em seus diferentes estádios de desenvolvimento, na bacia do rio uruguai médio, Uruguai, RS. **Biodiversidade Pampeana**, Uruguai, v. 3, n. 4, p. 11-18, dez. 2005.

ROMAGOSA, E. **Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultraestrutura) e indução da reprodução do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro, Vale do Ribeira, São Paulo**. 1998. 218 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1998.

SANTOS, J. E.; BAZZOLI, N.; SANTOS, G. B. Morphofunctional organization of the male reproductive system of the catfish *Iheringichthys labrosus* (Lutken, 1874) (Siluriformes:Pimelodidae). **Tissue & Cell**, Essex, v. 33, n. 5, p. 533-540, Sept. 2001.

SANTOS, J. E.; HEID, S. L. **Histologia de peixes**. São Paulo: FUNEP, 1981. 80 p.

SELMAN, K.; WALLACE, R. A. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. **Zoology Science**, San Francisco, v. 6, n. 1, p. 211-231, 1989.

SILVERTEIN, J.; SMALL, B. C. **Reproductive and culture of channel catfish**. New York: Elsevier, 2004. 676 p.

SNEED, K. E.; HOWARD, P. C. The morphology of the testes and accessory reproductive glands of the catfishes (Ictaluridae). **Copeia**, Lawrence, v. 4, p. 606-611, 1963.

SWENSON, E. A. et al. Validation of endoscopy for determination of maturity in small salmonids and sex of mature individuals. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 4, n. 136, p. 994-998, 2007.

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

WALLACE, R. A.; SELMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. **Integrative and Comparative Biology**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 325-343, June 1981.

WELLBORN, T. L. **Channel catfish: life history and biology**. New Orleans: SRAC, 1999. Disponível em:
<<http://www.farminfo.org/aquaculture/chancat.htm>>. Acesso em: 4 fev. 2010.

WILDHABER, M. L. et al. Gender identification of shovelnose sturgeon using ultrasonic and endoscopic imagery and the application of the method to the pallid sturgeon. **Journal of Fish Biology**, London, v. 67, n. 1, p. 114-132, July 2005.

ZAIDEN, S. F. **Morfologia gonadal e metabolismo energético da Piraputanga *Brycon hilarii* (Cuvier e Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae), em cativeiro, durante ciclo reprodutivo anual**. 2000. 152 p. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.