MODIFICAÇÕES HISTOLÓGICAS DAS GÔNADAS DE MANJUBA ANCHOVIELLA LEPIDENTOSTOLE (FOWLER, 1911) (OSTEICHTHYES, ENGRAULIDAE), DURANTE O CICLO REPRODUTIVO

MARIA TERESA DUARTE GIMAS
Pesquisador Científico
Instituto de Pesca

AGAR COSTA ALEXANDRINO
Pesquisador Científico
Instituto de Pesca

SARAH ARANA
Biólogo
Instituto de Pesca

HARRY VERMULM JUNIOR
Biólogo
Instituto de Pesca

GIMAS, M.T.D.; ALEXANDRINO, A.C.; ARANA, S.; VERMULM JUNIOR, H. Modificações histológicas das gônadas de manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae), durante o ciclo reprodutivo. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 27(1):25-32, 1990.

RESUMO: Foram utilizados 40 machos e 36 fêmeas de *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911), capturadas no Rio Ribeira de Iguape, Registro - SP, com o objetivo de estudar histologicamente o ciclo reprodutivo desta espécie. As gônadas foram caracterizadas macroscopicamente quanto ao volume, a coloração e a vascularização superficial. A seguir as gônadas esquerdas foram amostradas em seu terço médio, o qual foi fixado em líquido de Bouin e processado segundo técnicas histológicas de rotina. Foram identificados cinco estádios: imaturo, início de maturação, maturação avançada, reprodução e esgotado.

UNITERMOS: Peixes, manjuba; Reprodução, peixes; Histologia

INTRODUÇÃO

A *Anchoviella lepidentostole*, conhecida vulgarmente por manjuba, é um peixe anádromo da família Engraulidae, de relevante importância econômica para o litoral sul do Estado de São Paulo, em especial na região do es-

tuário do Rio Ribeira de Iguape.

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos com engraulídeos, especificamente com *Anchoviella lepidentostole*, podem ser citados os trabalhos de CARVALHO & RAMOS⁸ (1941); CARVALHO⁷ (1951); NOMURA²⁴ (1962); FIGUEIREDO & MEZEZ⁹ (1978); GIMAS et alii^{10,13,15,16,14,12} (1984, 1985, 1986, 1987, 1988); PAIVA FILHO et alii²⁶ (1986); SOUZA et alii³⁰ (1988), os quais abordam diversas características biológicas da espécie.

O presente trabalho teve por objetivo descrever o ciclo reprodutivo, através de observações histológicas do epitélio germinativo de machos e fêmeas, nas diferentes fases de maturação gonadal, fornecendo subsídios para a compreensão da biologia reprodutiva de *A. lepidentostole*.

MATERIAL E MÉTODO

Devido ao hábito migrador da espécie em estudo, o material foi coletado em diferentes pontos do Rio Ribeira de Iguape, desde a região estuarina (Barra do Icapara) até o Município de Sete Barras, que está localizado a 100 km aproximadamente do litoral. O período experimental foi de vinte e quatro meses durante os anos de 1985 e 1986.

Os espécimes foram sacrificados por asfixia, necropsiados e a seguir realizadas as análises macroscópicas das gônadas quanto ao volume, a coloração e a vascularização superficial. O terço médio de cada gônada esquerda foi fixado em líquido de Bouin durante 24 horas, à temperatura ambiente e, posteriormente foram submetidas a técnicas histológicas de rotina para inclusão em parafina. Os cortes de 7 µm de espessura foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina e pelo método de tricrômico de Mallory.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testículos

Os testículos são órgãos pares, alongados que se estendem por toda a cavidade abdominal, presos pelo mesórquio, e unidos na porção posterior a um único ducto, que se abre na papila urogenital, através do qual os gametas são eliminados. Os testículos apresentam volume, peso e coloração variáveis, de acordo com a fase do ciclo reprodutivo em que se encontram. Estas características são semelhantes às observadas para a maioria dos teleósteos (TURNER³¹, 1919; WEISEL³², 1943; JAMES¹⁹, 1946; HENDERSON¹⁷, 1962; POLLARD²⁷, 1972; ALEXANDRINO et alii², 1987).

Em manjuba não foram observadas macroscopicamente estruturas semelhantes a vesículas seminais, como as

descritas em *Clarias batrachus* por LEHRI²⁰ (1967).

Os testículos imaturos de manjuba são pequenos, filiformes e transparentes. Em início de maturação, mostram um ligeiro aumento de volume, sendo alongados e de coloração esbranquiçada. Já no estágio de maturação mais avançada, apresentam aumento de volume, com dobras na superfície, sendo ligeiramente achatados, branco-leitosos, com discreta vascularização superficial. No estágio maduro ou de reprodução, os testículos estão volumosos, ocupando quase toda a cavidade abdominal. A vascularização é abundante, e a um simples manuseio do animal, o sêmen flui com facilidade. Nos indivíduos esgotados, os testículos diminuem de volume, sendo friáveis e de coloração avermelhada.

Histologicamente, os testículos apresentam características comuns a outros teleósteos, ou seja a presença de túnica albugínea (Fig. 1A) envolvendo o órgão. Internamente, são observados inúmeros túbulos seminíferos contendo cistos de células germinativas em diferentes fases de espermatogênese, sendo que cada cisto é formado por um único tipo celular. Estas observações estão de acordo com as encontradas em outras espécies estudadas por ANDRADE⁴ (1980); BARBIERI et alii⁵ (1981); ALEXANDRINO et alii² (1987). Já em *Amphipnous cuchia* (Ham), RASTOGI²⁸ (1968) descreve a ausência de epitélio germinativo verdadeiro.

No interior dos cistos são encontradas células germinativas nas seguintes fases de espermatogênese: espermatogônias primárias e secundárias, espermátócitos primários e secundários e espermátides. Os espermatozoides são observados livres na luz do túbulo seminífero.

O envoltório cístico não foi visto em manjuba, diferindo, portanto, do que se observa em *Leporinus silvestrii* (ANDRADE⁴, 1980) onde a parede do cisto é constituída por prolongamentos citoplasmáticos de células císticas.

A espermatogônia primária é a maior célula da linhagem germinativa, encontrando-se isolada, próxima aos septos interlobulares, possui núcleo grande, vesiculoso, de discreta basofilia e cromatina delicada, o citoplasma é escasso e acidófilo. (Fig. 1A)

A espermatogônia secundária é ligeiramente menor que a primária, distribui-se em grupos de 3 ou 4 células, possui núcleo arredondado, ligeiramente basófilo, de cromatina frouxa. O citoplasma é escasso e discretamente basófilo. (Fig. 1A)

Os espermátócitos primários são originados por divisão mitótica das espermatogônias secundárias. O núcleo é arredondado, bastante basófilo, com cromatina disposta em grumos. O citoplasma apresenta-se escasso e ligeiramente basófilo. (Fig. 1B)

Os espermátócitos secundários apresentam tamanho variado, porém são menores que o espermátócito primário. O núcleo é arredondado, de intensa basofilia, com

cromatina disposta perifericamente, concentrando-se em um dos polos. O citoplasma é basófilo. (Fig. 1B)

As espermátides são bem menores que as células já descritas e localizam-se na região central do lóbulo, apresentando núcleo arredondado e cromatina intensamente condensada. O citoplasma é escasso e ligeiramente acidófilo. (Fig. 1C)

Os espermatozoides são as menores células desta linhagem, localizados no centro do lóbulo, com núcleo em forma de ogiva, basófilo, porém com uma região central mais clara. Estas células possuem flagelo longo e acidófilo. (Fig. 1D)

A descrição morfológica das células espermatogênicas de *Anchoiella lepidentostole* mantém o mesmo padrão de outros teleósteos já estudados (BARBIERI et alii⁵, 1981 e AGOSTINHO¹, 1985), excetuando-se o observado em espermátócitos secundários e espermatozoides. Em *Salmo irideus*, nos espermátócitos secundários, é observado um arranjo em buquê da cromatina, e os espermatozoides apresentam núcleo arredondado (ALEXANDRINO et alii², 1987). Na manjuba, por outro lado, o primeiro tipo celular apresenta cromatina frouxa e no segundo tipo o núcleo é em forma de ogiva.

Nos testículos de *Anchoiella lepidentostole* foi observada a presença de espermatogônias durante todo o ciclo, sugerindo que estas células sejam as responsáveis pela manutenção da linhagem germinativa. Segundo HTUNHAN¹⁸ (1978), existe um estoque de células germinativas indiferenciadas durante o ano todo, porém, RUBY & McMILLAN²⁹ (1975) discutem a possibilidade destas células serem originárias de células intersticiais.

GIAMAS et alii¹¹ (1983) detectaram dois picos de reprodução para *A. lepidentostole*, um no outono e outro na primavera, porém estes dois picos, segundo MANDELLI JUNIOR & GIAMAS²² (1981), poderiam corresponder ao ciclo reprodutivo de duas populações distintas. Baseando-se nestes dados bibliográficos e nos resultados histológicos obtidos no presente trabalho poder-se-ia inferir que nos períodos de março a junho e de setembro a dezembro estas populações deveriam ser preservadas para que ocorresse a perpetuação normal da espécie. Por outro lado, OLIVEIRA & FERREIRA²⁵ (1986) afirmam que no Rio Paraíba do Sul (RJ), esta espécie, apresenta apenas um pico de desova, que ocorre na primavera.

Ciclo reprodutivo no macho

a) Estádio I - Imaturo ou Jovem

No peixe imaturo, observa-se a presença apenas de espermatogônias primárias e secundárias.

b) Estádio II - Início de Maturação

Histologicamente os testículos são constituídos de túbulos seminíferos que contêm cistos de espermatócitos primários e secundários em grande quantidade, enquanto as espermatogônias e os cistos de espermatídes são raros. (Fig. 1E)

c) Estádio III - Maturação Avançada

Observam-se cistos em diferentes fases de espermatogênese, porém ocorre predominância de cistos de espermátides e espermatozóides no lume tubular. (Fig. 1F)

d) Estádio IV - Reprodução

Predominam os espermatozóides no lume dos túbulos seminíferos, notando-se, ainda, cistos de células espermato gênicas em diferentes fases de desenvolvimento. (Fig. 1G)

e) Estádio V - Esgotado

Os testículos mostram desarranjo estrutural. Observam-se espermatozóides residuais no lume dos túbulos e a presença de raras espermatogônias. (Fig. 1H)

A atividade sazonal dos testículos de teleósteos é classificada em vários estádios, segundo diversos autores (WEISEL³², 1943; JAMES¹⁹, 1946; HENDERSON¹⁷, 1962; BISHT⁶, 1974; ANDRADE⁴, 1980; ALEXANDRINO et alii², 1987; ZANIBONI FILHO & RESENDE³³, 1988), porém, o critério histológico para determinação dos estádios segue um padrão comum, que vem a ser o desenvolvimento das células germinativas.

Ovários

Os ovários de *Anchoviella lepidentostole*, quanto aos estádios de maturação gonadal, foram descritos macroscopicamente por GIAMAS et alii¹¹ (1983).

A morfologia microscópica dos ovócitos desta espécie, nas diferentes fases, foi descrita por LOPES et alii²¹ (1984) e classificada em 7 fases distintas, a saber: Fase I - Cromatina-nucléolo; Fase II - Perinuclear inicial; Fase III - Perinuclear avançada; Fase IV - Vesícula vitelínica; Fase V - Vitelogênese I; Fase VI - Vitelogênese II; Fase VII - Óvulo maduro.

Baseado nas fases acima citadas, o ciclo reprodutivo das fêmeas foi dividido, à semelhança dos machos, em cinco estádios.

Ciclo reprodutivo na fêmea

a) Estádio I - Imaturo ou Jovem

Os ovários apresentam-se preenchidos por células

germinativas nas primeiras fases de desenvolvimento, ou seja: cromatina-nucléolo, perinuclear inicial e perinuclear avançada. (Fig. 2A e 2B)

b) Estádio II - Início de Maturação

Neste estágio predominam os ovócitos na fase de vesícula vitelínica, podendo-se, ainda, observar as fases anteriormente descritas.

c) Estádio III - Maturação Avançada

Observa-se grande quantidade de ovócitos nas fases de vitelogênese I e II, evidenciando-se, também, alguns óvulos maduros e o rareamento dos ovócitos nas fases iniciais de desenvolvimento. (Fig. 2C)

d) Estádio IV - Reprodução

Nos ovários em reprodução constata-se a predominância de óvulos maduros, grande quantidade de ovócitos em vitelogênese I e II, e células em fases iniciais de desenvolvimento. (Fig. 2D)

e) Estádio V - Esgotado

Os ovários apresentam grande quantidade de folículos vazios e atresícos, além de ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento. (Fig. 2E)

O processo de reabsorção dos ovócitos ou atresia folicular foi descrito por LOPES et alii²¹ (1984), para a *Anchoviella lepidentostole*.

Quanto aos folículos vazios constatou-se hipertrofia e hiperplasia da camada granulosa, originando os folículos pós-ovulatórios, os quais parecem estar relacionados com a síntese de hormônios esteróides (NICHOLLS & MARPLE²³, 1972 e ALEXANDRINO et alii³, 1987).

GIAMAS, M.T.D.; ALEXANDRINO, A.C.; ARANA, S.; VERMULM JUNIOR, H. Gonad histological modifications in manjuba, *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae), durant the reproductive cycle. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 27(1):25-32, 1990.

SUMMARY: Forty males and thirty-six females of *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911), captured from Ribeira de Iguape River, Registro, State of São Paulo, were utilized with the purpose to study histologically the reproductive cycle this species. The gonads were macroscopically characterized about yours volume, color and superficial vascularization. Following to this the left gonads were sampled in their middle third which were fixed in Bouin. Routine histological

techniques coming next. Five stages were identified: immature, beginning of maturation, advanced maturation, reproduction and empty.

UNITERMS: Fish, manjuba; Reproduction of fish; Histology

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-AGOSTINHO, A.A. *Estrutura da população, idade, crescimento e reprodução de Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricaridae) do Rio Paranapanema. São Carlos, 1985. /Tese de doutoramento - Universidade Federal de São Carlos/
- 02-ALEXANDRINO, A.C.; PINHEIRO, E.F.G.; RIGOLINO, M.G.; CAMPOS, E.C.; ARANA, S. Ciclo reprodutivo de *Salmo irideus* Gibbons (Pisces, Salmoniformes) mantidos em sistema de cultivo intensivo: caracterização macroscópica e microscópica dos testículos. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 24:169-180, 1987.
- 03-ALEXANDRINO, A.C.; PINHEIRO, E.F.G.; TABATA, Y.A.; CARVALHO, M.H. Ciclo reprodutivo de *Salmo irideus* Gibbons (Pisces, Salmoniformes) mantidos em sistema de cultivo intensivo: caracterização microscópica dos ovários. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 24:157-168, 1987.
- 04-ANDRADE, D.R. *Variação cíclica anual da espermatogênese em Leporinus silvestri* (Boulenger, 1902) Peixe. Teleosteo. Belo Horizonte, 1980. /Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Minas Gerais/
- 05-BARBIERI, M.C.; BARBIERI, G.; MARINS, M.A. Anatomy and histology of the the testicle of *Geophagus brasiliensis* at the Lobo Dam, State of São Paulo, Brazil. *Rev. bras. Biol.*, 41:169-174, 1981.
- 06-BISHT, J.S. Seasonal histological changes in the testes of a hill-stream teleost, *Schizothorax richardsonii* (Gray/Hard). *Acta anat.*, Basel, 88:398-410, 1974.
- 07-CARVALHO, J.P. Engraulídeos brasileiros do gênero *Anchoviella*. *Bol. Inst. paul. Oceanogr.*, 2:42-66, 1951.
- 08-CARVALHO, J.P. & RAMOS, F.A. O desenvolvimento da pesca e a industrialização da manjuba no Rio Ribeira. *Bol. Indústria. anim.*, 4:38-59, 1941.
- 09-FIGUEIREDO, J.L. & MENEZES, N.A. *Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. II. Teleostei (1)*. São Paulo, *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 27(1): 25-32, 1990.
- Museu de Zoologia da USP, 1978.
- 10-GIAMAS, M.T.D.; MOTA, A.; RODRIGUES, J.D.; MANDELLI JUNIOR, J. Dinâmica da nutrição da manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae) do Rio Ribeira de Iguape, Estado de São Paulo, Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, 11:107-113, 1984.
- 11-GIAMAS, M.T.D.; SANTOS, L.E.; VERMULM JUNIOR, H. Influência de fatores climáticos sobre a reprodução da manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Teleostei, Engraulidae). *Bol. Inst. Pesca*, 10:95-100, 1983.
- 12-GIAMAS, M.T.D.; SANTOS, L.E.; VERMULM JUNIOR, H.; SOUZA, J.N. Influência da fluviometria e de alguns fatores climáticos sobre a produção pesqueira de *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Teleostei, Engraulidae) no Rio Ribeira de Iguape. *Rev. bras. Zool.*, São Paulo, 4:251-258, 1988.
- 13-GIAMAS, M.T.D.; VERMULM JUNIOR, H.; SADOWSKI, V. Estimativa do comprimento médio da primeira maturação sexual da "manjuba" *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae), em Registro (SP). *Bol. Inst. Pesca*, 12:39-45, 1985.
- 14-GIAMAS, M.T.D.; VERMULM JUNIOR, H.; SANTOS, L.E.; SOUZA, J.N. Estimativa da produção comercial da manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae), no Rio Ribeira de Iguape, em Registro (SP). *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 24:71-74, 1987.
- 15-GIAMAS, M.T.D.; VERMULM JUNIOR, H.; TAKINO, M. Composição química da *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae). *Bol. Inst. Pesca*, 12:109-122, 1985.
- 16-GIAMAS, M.T.D.; VERMULM JUNIOR, H.; TAKINO, M. Características limnológicas de áreas de captura de manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae) no Rio Ribeira de Iguape, em Registro (SP). *Bol. Inst. Pesca*, 13:77-87, 1986.
- 17-HENDERSON, N.E. The annual cycle in the testis of the eastern brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). *Canad. J. zool.*, 40:631-641, 1962.
- 18-HTUN-HAN, M. The reproductive biology of the dad *Limanda limanda* (L.) in the North Sea: gonado somatic index, hepatossomatic index and

condition factor. *J. Fish. Biol.*, 13:369-378, 1978.

19-JAMES, M.J. Histology and gonadal changes in the bluegill *Lepomis macrochirus* and the large mouth bass *Huro salmoides*. *J. Morph.*, 79:63-91, 1946.

20-LEHRI, G.K. The annual cycle in the testis of the catfish *Clarias barrachus* L. *Acta anat.*, Basel, 62:135-154, 1967.

21-LOPES, R.A.; SANTOS, H.S.L.; CONTRERA, M.G.D.; SANTOS, O.L.; CAMPOS, G.M. Ritmo de desenvolvimento dos ovócitos da manjuba *Anchoviella lepidentostole* Fowler, 1911 (Pisces, Engraulidae), do litoral sul do Estado de São Paulo, Brasil. *Mems. Mus. Mar., Cascais*, 3(28):1-36, 1984.

22-MANDELLI JUNIOR, J. & GIAMAS, M.T.D. Análise de algumas características merísticas da manjuba comercial, *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Teleostei, Engraulidae) do Rio Ribeira, no Município de Registro, Estado de São Paulo. *Bol. Inst. Pesca*, 8:131-138, 1981.

23-NICHOLLS, T.J. & MARPLE, C. Ultrastructure observations on possible sites of steroid biosynthesis on the ovarian follicular epithelium of two species of cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum* and *Haplochromis multicolor*. *Z. Zellforsch.*, 128:317-335, 1972.

24-NOMURA, H. "Manjuba" or anchovy fishery of Southern Brazil. *Comm. Fish. Rev.*, 24:54-55, 1962.

25-OLIVEIRA, J.A. & FERREIRA, M.G.S. Informes sobre a manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Teleostei, Engraulidae) no trecho do Rio Paraíba do Sul, entre os municípios de São João da Barra e São Fidélis no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, SUDEPE, 1986.

26-PAIVA FILHO, A.M.; ZANI-TEIXEIRA, M.L.; KIHARA, P.K. Contribuição ao conhecimento da biologia da manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911), no estuário de São Vicente, SP, (Osteichthyes, Engraulidae). *Bol. Inst. Oceanogr.*, 34:71-77, 1986.

27-POLLARD, D.A. The biology of a landlocked form of the normally catadromous salmoniform fish *Galaxias maculatus* (Jenyns). III - Structure of the gonads. *Aust. J. mar. Freshwat. Res.*, 23:17-38, 1972.

28-RASTOGI, R.K. Annual changes in the testicular activity of the teleost *Amphipnous cuchia* (Ham.). *Annotnes zool. Jap.*, 41:11-23, 1968.

29-RUBY, S.M. & McMILLAN, D.B. The interstitial origin of germinal cells in the testis of the stickleback. *J. Morph.*, 145:447-466, 1975.

30-SOUZA, J.N.; GIAMAS, M.T.D.; VERMULM JUNIOR, H. Tipo de desova e fecundidade em *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911). *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 25:252-260, 1988.

31-TURNER, C.L. The seasonal cycle in the spermary of perch. *J. Morph.*, 32:681-711, 1919.

32-WEISEL, G.E. A histological study of the testis of the sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *J. Morph.*, 73:207-230, 1943.

33-ZANIBONI FILHO, E. & RESENDE, E.K. Anatomia de gônada, escala de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Rev. bras. Biol.*, 48:833-844, 1988.

Recebido para publicação em 10/10/89

Aprovado para publicação em 12/12/89

FIG. 1 - Modificações histológicas das gônadas de manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae), durante o ciclo reprodutivo.

REFERÊNCIA

FIG. 2 - Modificações histológicas das gônadas de manjuba *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (Osteichthyes, Engraulidae), durante o ciclo reprodutivo.