

ESTUDOS SOBRE ESTRUTURA, CICLO DE VIDA E COMPORTAMENTO DE *SARDINELLA BRASILIENSIS* (STEINDACHNER, 1879), NA ÁREA ENTRE 22°S E 28°S, BRASIL.  
3. MORFOLOGIA E HISTOLOGIA DE OVÁRIOS E ESCALA DE MATURIDADE\*

Victória Judith ISAAC-NAHUM<sup>1</sup>, Anna Emília A. de M. VAZZOLER<sup>2\*\*</sup> &  
†Elza Matta ZANETTI-PRADO<sup>2</sup>

1 SUDEPE - Superintendência do Desenvolvimento da Pesca (SP)

2 Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo

---

### Synopsis

*A better understanding of the reproductive process is obtained when histologic analysis of gonades is associated with macroscopic observations during the sexual cycles. This paper describes the developmental stages of the oocytes of the ovaries in 119 females of S. brasiliensis sampled along the Brazilian coast, between 22°S and 28°S. The cytologic characteristics of the germinative cells during the maturation process are given and six oocyte phases are described. Seven maturity stages are established: A (virgin), Bi (incipient maturation), Bf (advanced maturation), Ci (mature), Cf (ripe), D (spent) and R (repose). These stages are compared to those presently used with respect to S. brasiliensis.*

Descriptors: *Sardinella brasiliensis*, reproductive organs, histology, reproduction (biology).

Descritores: *Sardinella brasiliensis*, órgãos reprodutores, histologia, reprodução biológica.

---

### Introdução

O conhecimento dos mecanismos reprodutivos em peixes é fundamental para a compreensão do ciclo de vida, para uma adequada estimativa da fecundidade e para o estabelecimento de normas de controle e orientação racional da exploração, no caso de espécies de importância comercial.

Nos estudos sobre reprodução de *Sardinella brasiliensis*, Vazzoler & Rossi-Wongtschowski (1976) usaram uma escala de maturidade de quatro estádios macroscópicos, descrita por Vazzoler (1971; 1981), e admitiram um tipo de desova total para a espécie.

Matsuura (1977) adaptou a Escala Internacional de Maturidade (IMS), desenvolvida em 1898 por Heincke e aplicada por Bower & Holliday (1961) para arenque, estabelecendo seis estádios, baseando-se, também, em caracteres macroscópicos das gônadas.

Observações histológicas preliminares

(\*) Realizado com apoio financeiro da FAPESP, CNPq e OEA.

(\*\*) Atualmente no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA.

Publ. n. 578 do Inst. oceanogr. da Usp.

foram realizadas por Worsmann & Mandelli (1976), que classificaram as células germinativas em três fases.

Estes estudos resultam em utilidade para uma análise geral do processo reprodutivo; entretanto, para se chegar a uma classificação que reflita a verdadeira dinâmica reprodutiva apresentada pela espécie, é necessário associarem-se às observações macroscópicas, outras, de natureza microscópica, que possam suportar uma análise mais detalhada.

No presente estudo, pretende-se estabelecer uma escala de maturidade mais adequada, que leve em conta ambas as observações, macro e microscópicas, caracterizando-se, as modificações anátomo-morfológicas dos ovários, como as características citológicas das células germinativas durante a ovogênese.

### Material e métodos

Foram extraídos os ovários de 119 fêmeas de *S. brasiliensis*, coletadas mensalmente durante a realização do Projeto BIONEC/MEGALOSAR, e de amostras complementares obtidas no período de dezembro de 1978 a fevereiro de 1979 (Tab. 1).

Todos os exemplares eram adultos (com mais de 170 mm), com exceção de 5 indi-

víduos jovens que apresentavam de 40 a 150 mm.

Após anotação dos dados biológicos referidos em trabalho anterior (Rossi-Wongtschowski *et al.*, 1982), procedeu-se à extração das gônadas, das quais foram anotadas as características macroscópicas e classificadas, segundo Vazzoler (1971), em quatro estádios de maturidade.

Os ovários foram fixados em solução de Bouin, formol a 10% ou formol de Lillie e, posteriormente, incluídos em parafina, segundo a técnica rotineira.

Os cortes de 7 a 10  $\mu$ m foram corados com Hematoxilina-Eosina e observados sob microscópio.

As fotomicrografias foram efetuadas sob fotomicroscópio Wild M 11/MPS 55.

Tabela 1. Relação das gônadas de *Sardinella brasiliensis* processadas para histologia e o local de coleta

Amostra	Data	N. de exemplares	Local de coleta
SI - 1	agosto/77	9	Macaé
SI - 2	setembro/77	5	Arraial do Cabo
SIII B <sub>1</sub>	setembro/77	5	Lage de Santos
SI - 5	outubro/77	7	Cabo Frio
SIII B <sub>2</sub>	novembro/77	6	Queimada Grande
SI - 9	dezembro/77	8	Cabo Frio
SI N <sub>1</sub>	janeiro/78	3	Saquarema
SII N <sub>2</sub>	janeiro/78	4	Ilha Grande
SIII N <sub>1</sub>	janeiro/78	3	Queimada Grande
SVI N <sub>2</sub>	janeiro/78	4	Ilha do Arvoredo
SVI 11	fevereiro/78	8	Itajaí
SII 9	fevereiro/78	7	Angra dos Reis
SII 10	março/78	5	Angra dos Reis
SI 15	abril/78	6	Cabo Frio
SI 16	maio/78	5	Saquarema
SVI 19	junho/78	7	Ponta da Vigia
SI 19	julho/78	5	Cabo Frio
SUBa 1	dezembro/78	8	Ubatuba
SUBa 2	janeiro/79	2	Ubatuba
Santos 79	fevereiro/79	12	Santos

## Resultados

### Anatomia dos ovários

As gônadas femininas de *S. brasiliensis* localizam-se na região dorsal da cavidade abdominal, ventralmente ao rim e dorsalmente ao tubo digestivo e à bexiga natatória, possuindo forma alongada, com a região cefálica mais dilatada que a região caudal. Geralmente o ovário esquerdo apresenta-se maior que o direito. A cor varia muito com o estádio de maturidade, com gradação desde amarelo

translúcido até amarelo-alaranjado, além de avermelhadas (hemorrágicas).

Na região caudal, as duas gônadas prolongam-se por dois delgados tubos de curta trajetória, os ovidutos, que se unem para desembocar no poro genital único.

Os ovidutos apresentam-se vazios nos estádios pouco evoluídos, mas ficam repletos de ovócitos nos ovários maduros. As gônadas estão ligadas à parede do corpo por um mesovário, que possui numerosas células pigmentárias, e estão envoltas por uma delgada cápsula formada por epitélio simples e plano, que contém, por baixo, fibras musculares lisas e tecido conjuntivo por onde vasos e nervos atingem o interior do órgão.

Ao serem expostos os ovários, por incisão da cavidade abdominal, observa-se, ao longo dos mesmos, um delgado filete vascular de posição supra-visceral, de onde partem pequenas ramificações; a intensidade da vascularização varia com o estádio de maturidade.

Da região visceral da cápsula partem septos de tecido conjuntivo (lamelas ovíferas) para o interior do órgão, formando alças sem alcançar a parede oposta (Fig. 1). Desta maneira, as lamelas ovíferas delimitam cavidades, no seio das quais irão se desenvolver as células germinativas, no seu processo de maturação.

As lamelas ovíferas contêm o chamado "epitélio germinativo", onde encontram-se as células que darão origem a toda a linhagem germinativa. Os ovócitos, quando jovens, permanecem presos às lamelas, à medida em que vão se desenvolvendo, vão sendo liberados para a cavidade, descendo finalmente até o oviduto, para depois sair ao exterior através do poro genital.

### Fases de desenvolvimento ovocitário

Com base nas observações histológicas, foi possível distinguir seis fases e duas estruturas derivadas, que caracterizam o processo de maturação.

#### FASE I - Células germinativas jovens (Fig. 2)

Estas células, as menores (< 15  $\mu$ ), aparecem, com frequência, grupadas, formando ninhos inseridos nas lamelas, sempre em regiões de boa irrigação. São células de afinidade tintorial fraca; seu citoplasma constitui uma pequena banda

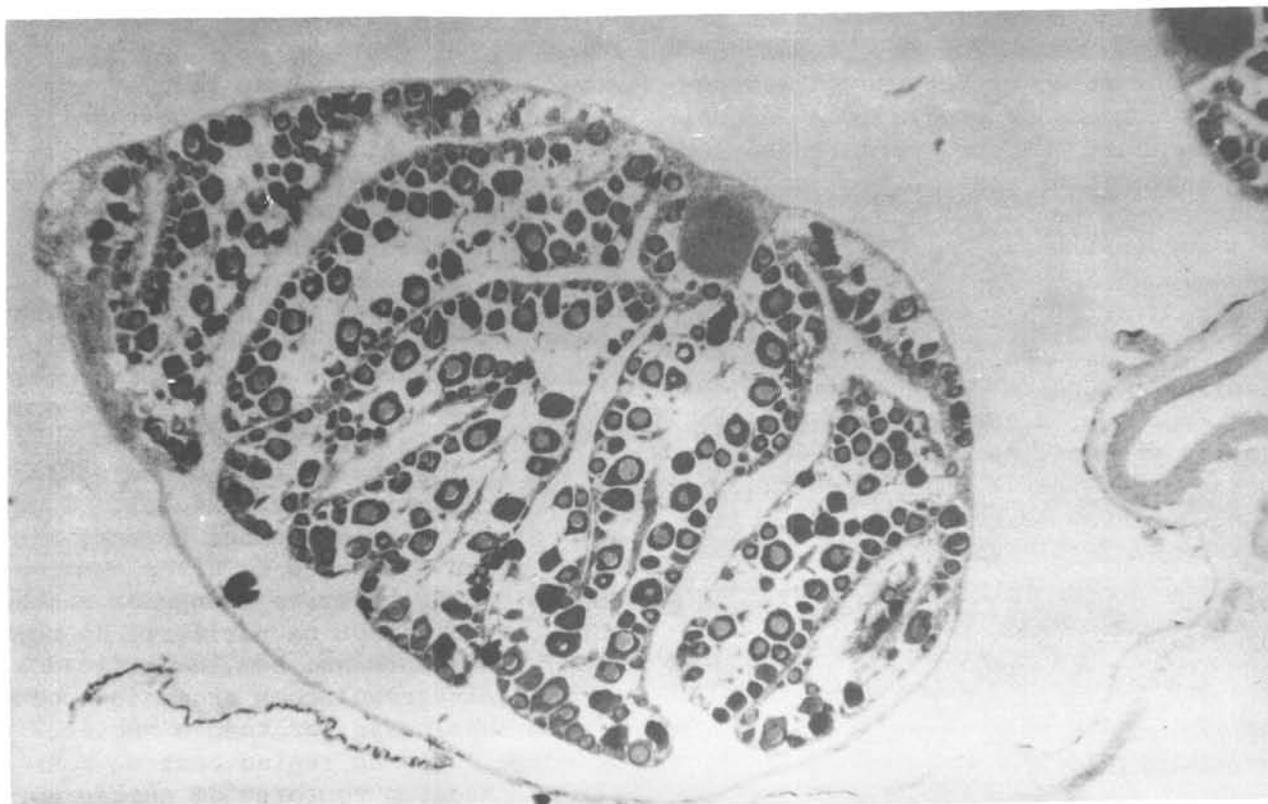


Fig. 1. Corte transversal de ovário virgem (estádio A). Observam-se a disposição das lamelas ovígeras e as células germinativas a elas associadas. Aum. 40 x.

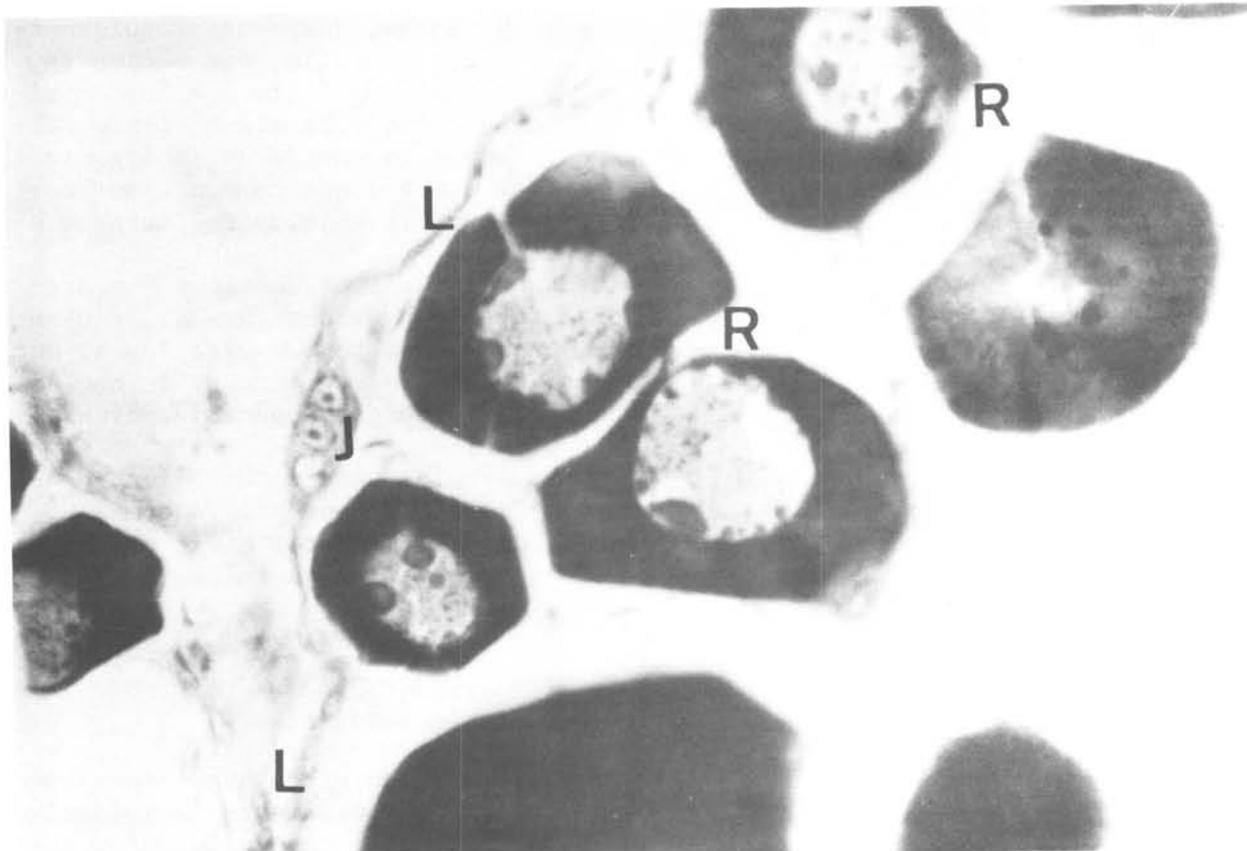


Fig. 2. Corte de ovário em estágio R, onde são observados um ninho com células germinativas jovens (J) e ovócitos basófilos do estoque de reserva (R). L = lamela ovígera. Aum. 400 x.

em torno do núcleo. Este, por sua vez, é arredondado, basófilo, com uma trama cromática, às vezes intensa, espalhada em toda sua área, que apresenta aparência mais condensada nas regiões da periferia nuclear. Existe, normalmente, um único nucléolo de posição bem central, que apresenta boa afinidade tintorial com a hematoxilina.

A verdadeira identidade destas células é de difícil discernimento, podendo ser tanto ovogônias como ovócitos nas primeiras etapas do desenvolvimento. Deve-se destacar, nesse sentido, que não foram observadas, apesar das numerosas amostras, divisões celulares nestas células, bem como em nenhuma outra célula da linhagem germinativa. Estas células só aparecem com frequência significativa nos ovários virgens, esvaziados e em repouso.

#### *FASE II - Ovócitos basófilos do estoque de reserva (Fig. 2)*

As células germinativas jovens desenvolvem-se, aumentando seu volume geral e, talvez devido a este fato, separam-se dos grupamentos em ninhos, destacando-se mais. Nesta fase, o citoplasma aparece bem definido e mais basófilo que na fase anterior. O núcleo apresenta sempre mais de um nucléolo e, à medida em que a célula vai aumentando de tamanho, estes tornam-se mais numerosos e volumosos, com forma arredondada e tamanhos variáveis, e lentamente vão sofrendo uma migração para a periferia nuclear, onde adquirem finalmente formas alongadas. Pequenos pontos cromáticos aparecem espalhados no nucleoplasma. Quanto à forma, de início estas células são arredondadas e, posteriormente, talvez devido à pressão de umas contra as outras, aparecem triangulares, retangulares ou ainda ovais. Seu diâmetro varia entre 15 e 70  $\mu\text{m}$  nas gônadas virgens ou em repouso, podendo atingir até 140  $\mu\text{m}$  nos ovários em maturação.

Os ovócitos desta fase de desenvolvimento são chamados de "estoque de reserva", pois deles irão originar-se as populações celulares que vão iniciar a vitelogenese.

Estas células estão presentes constantemente em todos os estádios de maturidade.

#### *FASE III - Ovócitos com vitelogenese lipídica (Fig. 3)*

A vitelogenese, processo celular pelo qual o citoplasma acumula substâncias de reserva para utilização futura na alimentação do embrião, caracteriza-se por ser uma fase de acelerado crescimento citoplasmático. O início deste processo é marcado pelo aparecimento, na periferia do citoplasma, que ainda é intensamente basófilo, de pequenos vacúolos, aparentemente vazios nos cortes processados com as técnicas de rotina; é provável que estes contenham lipídeos, que seriam lavados pelas sucessivas passagens dos preparados pelo álcool. O núcleo destas células também cresce, mas não à mesma proporção do citoplasma; os nucléolos, agora muito alongados e achatados, localizados na periferia do núcleo, nem sempre são bem identificados. As pequenas granulações cromáticas continuam espalhadas por todo o núcleo, principalmente na região central. Em alguns casos, o contorno do núcleo apresenta aspecto ondulado.

O epitélio folicular faz-se visível em torno deste ovócito, como uma camada de células planas, dispostas regularmente uma ao lado da outra, com núcleo de posição central, um único nucléolo e citoplasma basófilo. Em alguns casos, observa-se uma fina camada de substância acidófila, amorfa, que começa a ser depositada entre as células foliculares e o ovócito.

Os vacúolos citoplasmáticos aumentam rapidamente de número e tamanho, passando a ocupar quase todo o citoplasma, com exceção de uma faixa em torno do núcleo onde ele permanece homogêneo e intensamente basófilo.

Estas células apresentam diâmetros entre 140 e 240  $\mu\text{m}$ , de acordo com seu grau de desenvolvimento, e são características dos ovários no início da maturação.

#### *FASE IV - Ovócitos com vitelogenese lipídica e protéica (Fig. 3)*

O aparecimento, no citoplasma, de pequenos grânulos, perfeitamente individualizados, de coloração rosada intensa, caracteriza o início desta fase. Formam-se, primeiro, na periferia do citoplasma, misturados entre os vacúolos lipídicos, sendo, de início, muito pequenos e au-

mentando, posteriormente, de volume. O citoplasma, que continua crescendo, ainda mantém características principalmente basófilas, com uma faixa de citoplasma homogêneo, intensamente corado pela hematoxilina, em torno do núcleo, e outra, similar, mais estreita, na periferia do citoplasma.

O núcleo desta célula continua mantendo as características apresentadas na fase anterior; apenas, seu contorno mostra-se um pouco mais irregular.

As células foliculares crescem em altura e tornam-se mais evidentes. Entre o epitélio folicular e a membrana plasmática do ovócito, evidencia-se, agora, o espaço ocupado pela chamada "membrana pelúcida", francamente acidófila.

O diâmetro destas células varia entre 240 e 300  $\mu\text{m}$ . Esta fase é de curta duração, aparecendo em baixa frequência nos ovários em maturação.

#### FASE V - Ovócitos com vitelogênese completa (Fig. 4)

O ovócito aumenta rapidamente de tamanho em função do aumento acelerado do número

de grânulos de vitelo acidófilo. Estes também aumentam de tamanho, em relação aos primeiros surgidos na fase anterior, mudando totalmente o aspecto do citoplasma ovular.

A basofilia desaparece quase que totalmente. Os vacúolos lipídicos concentram-se por coalescência, migrando para a região perinuclear, comprimidos pelos grânulos vitelinos.

O núcleo mantém suas características anteriores, com os nucléolos bem pequenos, nem sempre visíveis, colados na periferia nuclear, que continua com contornos muito irregulares.

A membrana pelúcida espessa-se significativamente, mas não se pode observar nenhuma estrutura particular na sua constituição.

As células foliculares, inicialmente volumosas, constituem uma paliçada regular, com as características citológicas descritas anteriormente, sendo que, ao final desta fase, começam a se apresentar novamente achatadas.

Em alguns casos, é possível observar uma lâmina simples de tecido conjuntivo, que acompanha externamente o epitélio



Fig. 3. Corte de um ovário B, em início de maturidade. Observam-se ovócitos nas fases II, III e IV. Aum. 100 x.

folicular, denominada "teca folicular".

Nesta fase, as células apresentam diâmetro entre 300 e 450  $\mu\text{m}$ , com forma esférica. Nas observações a fresco aparecem como esferas opacas, visíveis a olho nu, e são freqüentes nos ovários em maturação avançada ou maduros.

*FASE VI - Ovócitos em hialinização*  
(Fig. 5)

Os ovócitos, nesta fase, mostram-se muito modificados. Sua característica mais evidente é a hidratação sofrida pelo citoplasma, que faz com que todos os grânulos de vitelo apareçam maiores e sem individualidade, dando ao citoplasma um aspecto manchado róseo de diferentes intensidades, ao lado de outras manchas mais basófilas, principalmente na região central do citoplasma.

Os vacúolos lipídicos, já concentrados na fase anterior, condensam-se numa única gota, a qual localiza-se inicialmente no centro, migrando, depois, para o polo vegetativo da célula.

O núcleo agora basófilo e ainda rodeado por uma pequena faixa de citoplasma, também basófilo, parece estar em vias de desintegração, mostrando contornos altamente irregulares; seu interior não apresenta estruturas definidas, a não ser uma grosseira trama granular, basófila, e algumas manchas acidófilas pequenas.

Nesta etapa, o núcleo sofre uma migração para o polo animal e é de difícil localização nos cortes histológicos.

Os contornos celulares apresentam-se muito irregulares, devido, seguramente, aos efeitos do processamento sobre células com grandes quantidades de água.

As células foliculares aparecem muito aplanadas.

As dimensões desses ovócitos são difíceis de estabelecer, devido à deformação dos contornos celulares. Entretanto, mesmo com esta restrição, as médias das medidas de diâmetro máximo e mínimo evidenciam diâmetros entre 450 e 600  $\mu\text{m}$ , ou ainda superiores.

Estes ovócitos constituem-se nos mais

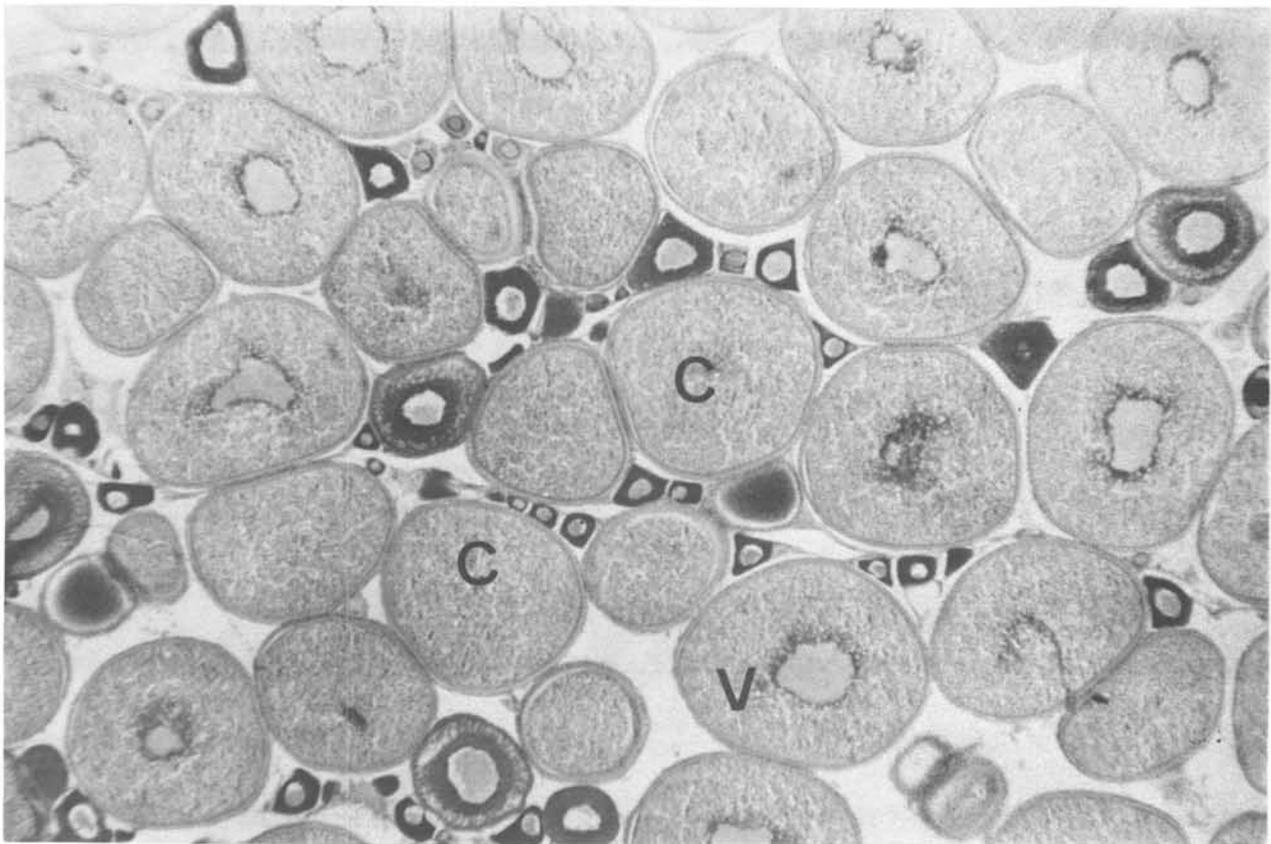


Fig. 4. Corte de ovário  $C_1$ , maduro inicial, mostrando numerosos ovócitos com vitelogenese completa (C), com grânulos de vitelo acidófilo em seu citoplasma (V). Aum. 40 x.

avanzados dentre os que foram observados, concluindo-se, portanto, estarem prontos para a desova.

#### FASE VII - Ovócitos atresicos em reabsorção (Fig. 6)

Em alguns ovários, é comum serem observados ovócitos, em qualquer fase da vitelogenese, que, seja por não terem conseguido ovular, seja por outras razões fisiológicas, sofrem processos degenerativos e vão sendo desintegrados e reabsorvidos pelos tecidos do órgão.

A primeira manifestação deste processo histológico é a perda de turgidez celular, devida, provavelmente, à perda de água.

Os grânulos de vitelo, quando presentes, perdem sua individualidade e constituem uma massa amorfa de substância acidófila. As células basófilas que ainda não possuíam vitelo, apresentam, às vezes, o citoplasma com duas zonas, uma mais intensamente corada, de localização perinuclear e outra periférica, também

basófila, mais ou menos intensa, com uma trama granular; o aspecto geral é de desintegração.

Os núcleos destas células emitem prolongamentos no citoplasma e desintegram-se rapidamente.

Os contornos celulares são irregulares, adquirindo, às vezes, formas caprichosas, até a célula desaparecer como tal.

#### FASE VIII - Corpos foliculares (Fig. 7)

Existe outra estrutura que se origina da proliferação das células foliculares, a partir de folículos vazios (pós-desova). Esta estrutura, que denominamos corpo folicular, forma-se quando células foliculares começam a hipertrofiar-se e multiplicar-se penetrando num espaço ocupado antes pelo ovócito, constituindo, assim, um corpo formado por cordões contíguos de células que, dobrados em todas as direções, ocupam a cavidade folicular.

As células foliculares apresentam-se

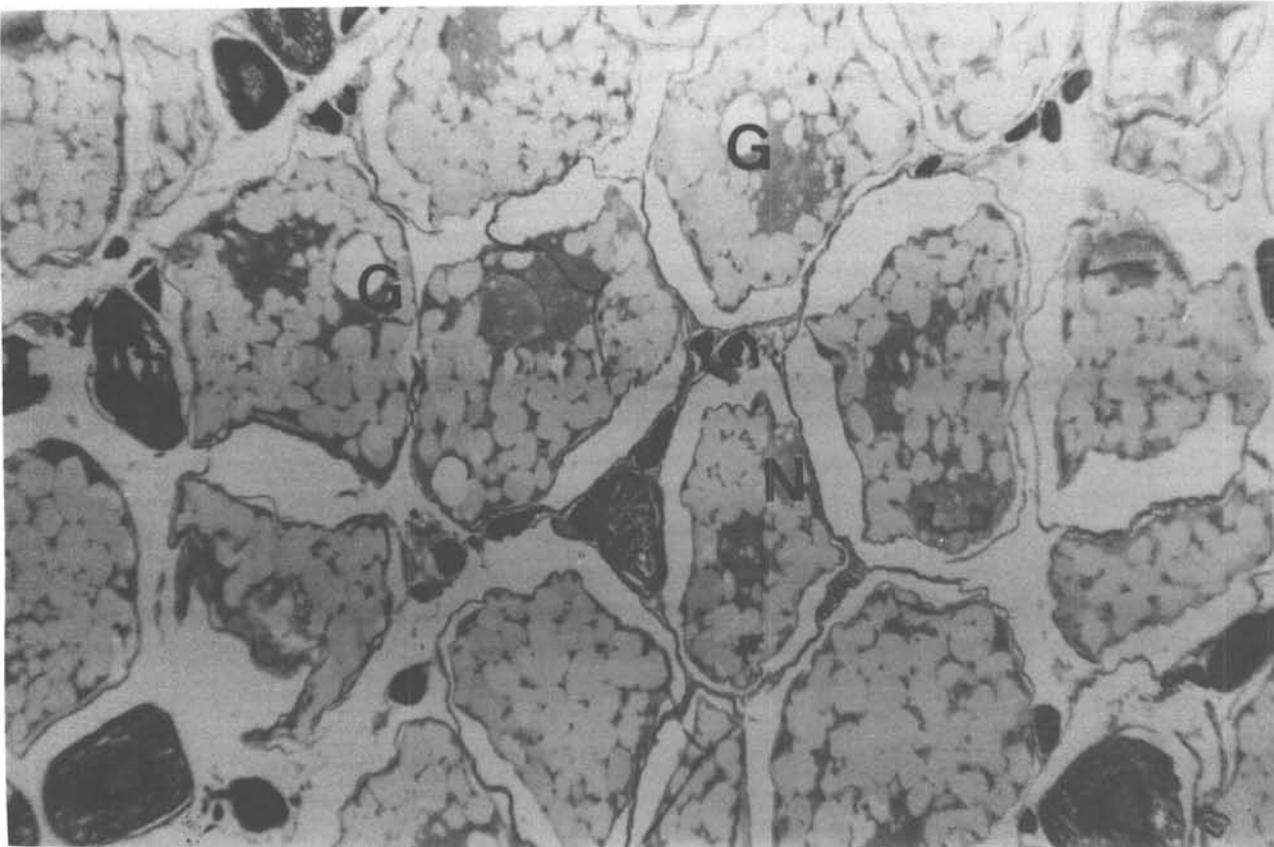


Fig. 5. Ovário Cf, maduro desovando, onde são observados os ovócitos em fase de hialização, momentos antes de ocorrer a desova.  
G = Gota de lípide. N = Núcleo. Aum. 40 x.

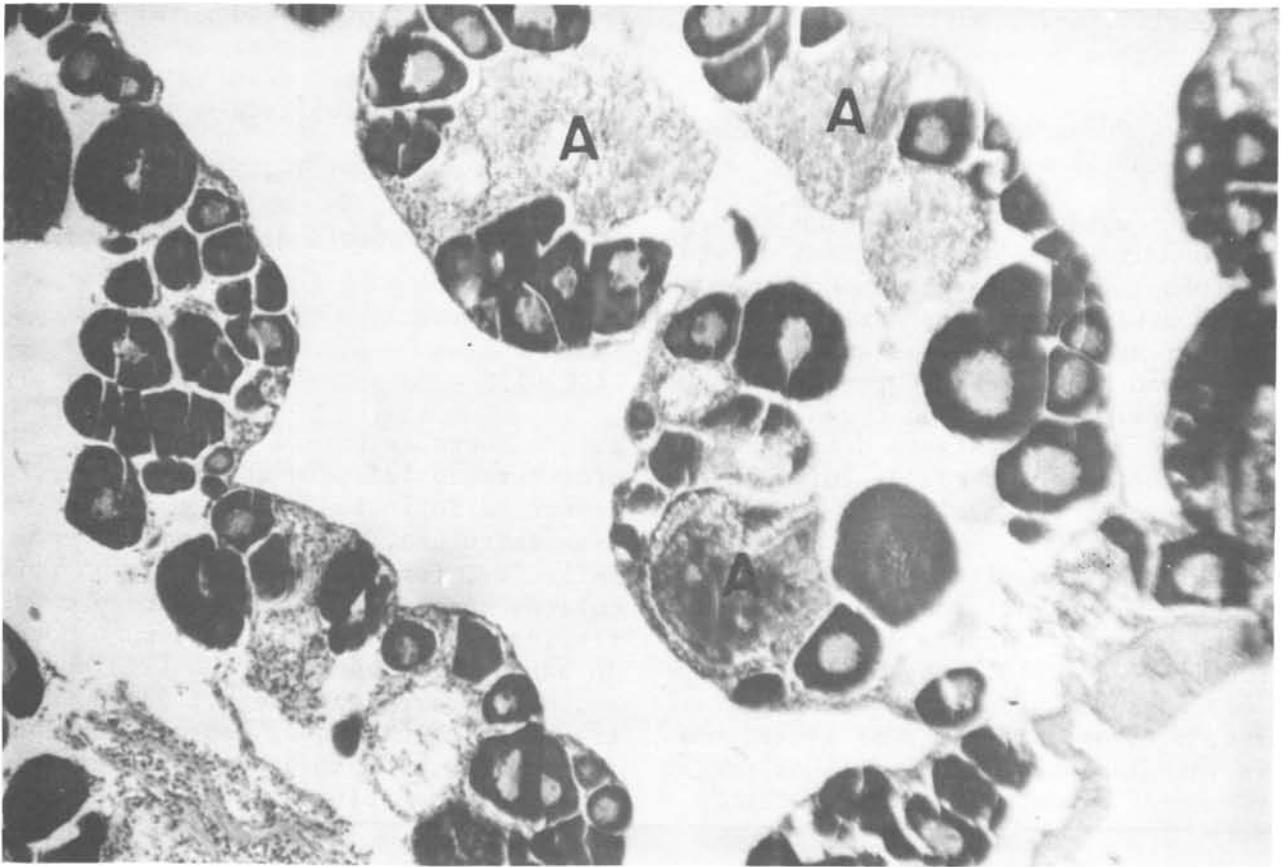


Fig. 6. Ovário D, esvaziado em recuperação, onde são observados restos de ovócitos atrésicos em reabsorção (A). Aum. 100 x.

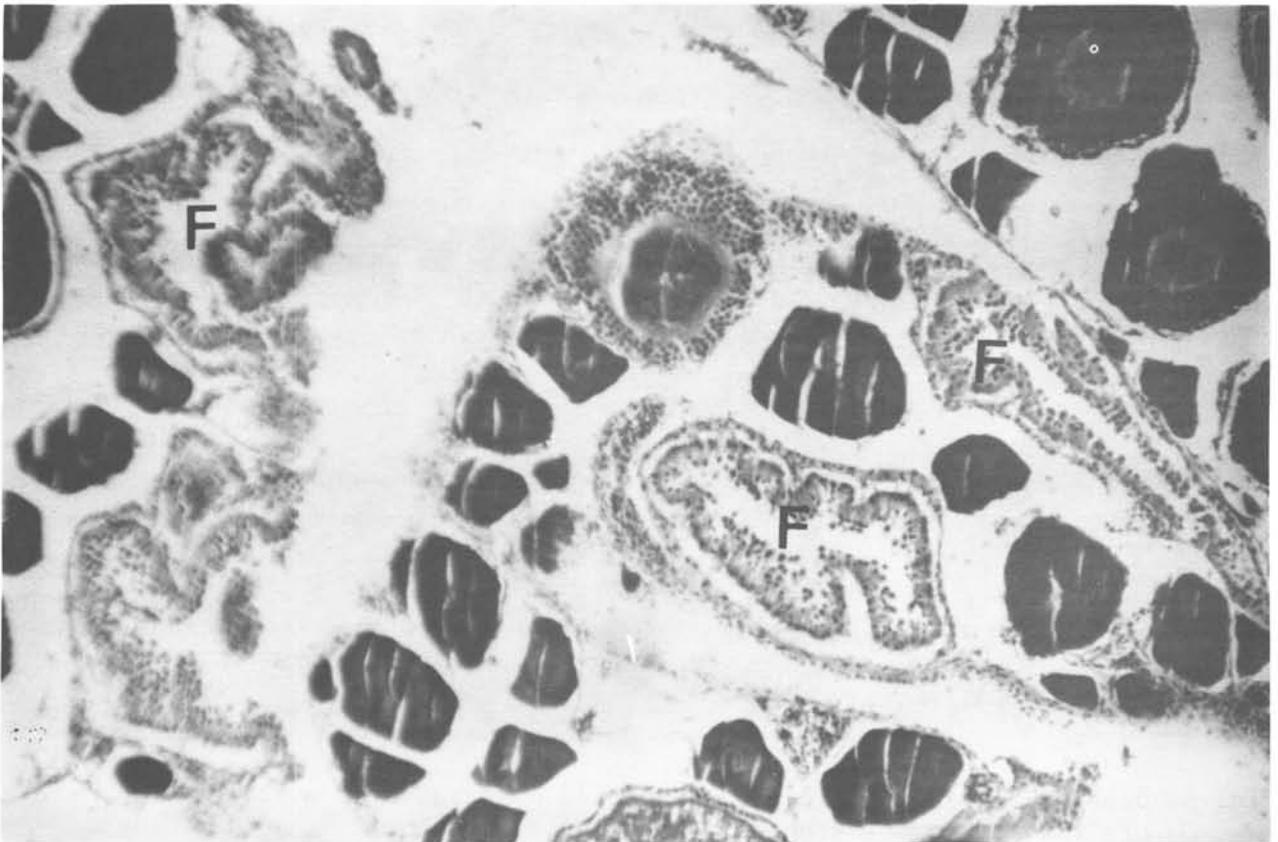


Fig. 7. Ovario em maturidade, apresentando corpos foliculares (F). Aum. 100 x.

agora retangulares, com citoplasma basófilo e ligeiramente granular, grande núcleo com um único nucléolo, de posição central.

#### *Caracterização dos estádios de maturidade*

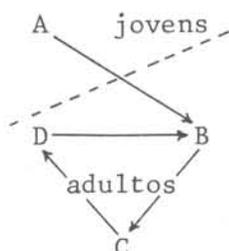
Preliminarmente, quando da coleta do material, os ovários foram classificados dentro de uma escala de quatro estádios, baseada apenas em observações macroscópicas bem evidentes (Vazzoler, 1971; 1981), evitando introduzir fases não reais:

Estádio A - Imaturo ou Virgem

Estádio B - Em maturação

Estádio C - Maduro

Estádio D - Esvaziado



Após a análise microscópica, esta escala foi revisada, relacionando-se o aspecto histológico dos cortes dos ovários ao aspecto macroscópico observado a fresco. Assim, a escala sugerida apresenta algumas modificações, ajustando-se à descrição, feitas a seguir:

#### *ESTÁDIO A - Imaturo ou Virgem (Fig. 1)*

Ovários neste estágio ocorrem em indivíduos que ainda não iniciaram sua primeira maturação sexual, sendo, assim, considerados jovens.

Macroscopicamente apresentam-se pouco desenvolvidos em tamanho, colados à parede do corpo, de aspecto filamentosos, translúcidos, não se observando quase sinais de vascularização nem ovócitos; as gônadas em si não atingem o poro genital, estando ligadas a este pelo oviduto, de diâmetro muito reduzido.

Histologicamente, os ovários imatu-

ros são caracterizados pela organização, dimensões e quantidade de células. A capsula é delgada e os vasos de pequeno calibre. Um número reduzido de lamelas ovigeras partem da região da capsula, próximo aos grandes vasos, com distribuição paralela entre si, sendo recobertas por células basófilas do estoque de reserva (fase II). Em algumas regiões do epitélio germinativo, geralmente próximas aos pequenos vasos, aparecem ninhos de células germinativas jovens (fase I).

#### *ESTÁDIO B - Em maturação*

a) B inicial - Início de maturação (B<sub>i</sub>) - (Fig. 3)

Ovários neste estágio apresentam-se, inicialmente, com coloração amarela-clara, ocupando 1/3 da cavidade abdominal. Podem ser observados, através da capsula, ovócitos opacos a olho nu, não muito concentrados ainda. O oviduto aparece, agora, mais curto, mas transparente e vazio.

Os ovários que estão na fase inicial do estágio em maturação possuem ovócitos em fases II e III e, às vezes, alguns grupos de células germinativas em fase I.

b) B final - Em maturação avançada (B<sub>f</sub>) -

Macroscopicamente, o ovário vai adquirindo uma coloração francamente amarela, aumentando seu volume e mostrando maior concentração de ovócitos opacos. Ocupa agora a metade ou mais da cavidade abdominal. Histologicamente, enquanto continuam se formando células em fase III, a partir das em fase II, ovócitos com vitelogênese incipiente (III) vão evoluindo para as fases IV e V, ou seja, começam a acumular vitelo acidófilo em forma de grânulos ou plaquetas.

O estágio B, assim, apresenta uma importante variedade de células, sendo esta a característica mais marcante para sua identificação.

É freqüente observar-se neste estágio ovócitos em reabsorção, às vezes em estado avançado, e também corpos foliculares.

O real significado deste aspecto não ficou devidamente esclarecido, devendo ser analisado mais detalhadamente em estudos futuros.

### ESTÁDIO C - Maduro

a) C inicial - Maduro inicial ( $C_i$ )  
(Fig. 4)

Macroscopicamente, os ovários neste estágio apresentam-se ocupando de dois terços a três quartos da cavidade abdominal, mostrando elevada concentração de ovócitos muito grandes e opacos; sua vascularização é pouco intensa.

A característica fundamental deste estágio é a presença de grande número de ovócitos com vitelogênese completa (fase V), com escassas células em fases II e III. Praticamente não se observam células na fase IV.

Os ovócitos com vitelogênese completa na fase V já haviam aparecido no estágio anterior; a diferença, entretanto, está em sua alta frequência neste estágio e, também, no aumento de diâmetro de cada uma das células (450  $\mu\text{m}$ ).

Em cortes de ovários em C inicial, pode-se observar alguns folículos; no entanto, as condições para a desova ainda não foram completadas.

b) C final - Maduro desovando ( $C_f$ )  
(Fig. 5).

Ovários que atingiram este estágio apresentam-se, macroscopicamente, extremamente desenvolvidos, ocupando toda a cavidade abdominal, sem vascularização visível, com ovócitos grandes e translúcido, estando seus ovidutos cheios destes. A cápsula ovariana é muito delgada e qualquer pressão provoca sua ruptura e conseqüente liberação dos ovócitos.

Histologicamente, a presença de numerosos ovócitos em estado de hialinização, ocupando a maior parte do órgão, é a característica mais evidente deste estágio.

As células apresentam-se, nos cortes, separadas uma das outras, devido, em parte, à desidratação provocada pelo processamento do material e também por estarem soltas nas cavidades.

Alguns folículos já vazios indicam que a desova está se iniciando. Observam-se às vezes, também nesta etapa, algumas células em fase V, junto às maduras em fase VI, porém, no final do estágio, encontrou-se principalmente estas últimas e, como sempre, células do estoque de reserva (fase II).

ESTÁDIO D - Esvaziado em recuperação  
(Fig. 6)

Ovários neste estágio apresentam-se, ma-

croscopicamente, flácidos, com membranas distendidas, ocupando metade ou menos da cavidade abdominal, sendo, sua característica mais marcante, sua coloração marcadamente avermelhada decorrente da presença de hemorragias mais ou menos generalizadas.

Histologicamente, uma vez produzida a evacuação de todas ou da maioria das células que sofreram o processo de vitelogênese total, os ovários ficam em estado de esvaziamento e desorganização muito marcado. As lamelas ovíferas, dilatadas anteriormente pelos ovócitos maduros, deixam agora um enorme espaço vazio entre si. As células nas fases I e II aumentam em número, apesar de não ter sido observada a mitose, o que leva a pensar em uma etapa de proliferação muito breve. São freqüentes ovócitos em atresia, folículos vazios e corpos foliculares.

A vascularização é intensa e numerosas hemorragias podem ser observadas. Células linfocitárias e macrófagos são comuns nos espaços livres.

Este estágio pode apresentar-se com três diferentes aspectos:

a) observam-se numerosas células na fase II e, ainda, células de outras fases (III, IV, V e VI). O diagnóstico de "esvaziado" é feito com base no aspecto de desorganização geral, hemorragias, folículos vazios e, também, porque o número destas últimas restantes não é muito grande, além de apresentarem signos de atresia;

b) em outros casos, observam-se, nos cortes, ovócitos nas fase I e II e também ovócitos na fase III, sendo que o restante parece ter sido eliminado ou reabsorvido. Neste caso é mais difícil diferenciar esta gônada de uma em estágio  $B_i$ , devendo-se procurar outros elementos como hemorragias ou folículos vazios, para o diagnóstico;

c) ainda ocorrem casos em que observam-se, nos cortes, apenas ovócitos nas fases I e II; estes ainda não teriam sido considerados no estágio "R", pela sua desorganização geral, presença de hemorragias e de atresia celular (Fig. 6).

Ao termo "esvaziado", utilizado para denominar este estágio, foi acrescido o "em recuperação", pois, imediatamente após a desova, surgem novas células do estoque de reserva, que levarão o ovário a uma reorganização e, finalmente, ao estágio "R", antes do início de um novo

ciclo, como também ocorrem, nesta etapa, fenômenos responsáveis pela "limpeza" de todos os restos deixados pela desova recente.

### ESTÁDIO R - Repouso (Fig. 8)

O estágio R abrange aqueles indivíduos que já iniciaram o ciclo reprodutivo, adultos, e que encontram-se em fase de transição, em repouso, entre o término de um ciclo e o início do próximo.

Macroscopicamente, estes ovários, apresentam-se com coloração amarelo-claro ou esbranquiçada, translúcidos ou ligeiramente turvos, com vascularização fraca, não se observando ovócitos; encontram-se colados à parede, ocupando cerca de um terço da cavidade abdominal, sendo, geralmente, maiores que os imaturos.

Histologicamente, as diferenças entre cortes nos ovários nos estádios A e R não são muito acentuadas; apenas, o tamanho da gônada e a falta de ordenação na distribuição celular, deixando de apresentar, no último caso, o aspecto organizado observado nos imaturos, permitem estabelecer diferenças.

O tipo, a proporção e tamanho das células são realmente similares, ocorrendo apenas células nas fases I e II; ocasionalmente, ocorrem algumas células na fase III. No estágio R, as lamelas ovíferas são mais compridas, devido ao aumento do volume da gônada, em relação às do estágio A.

No quadro abaixo, estão sumarizadas as características macro e microscópicas de ovários em distintos estádios da escala de maturidade sexual estabelecida.

Quadro 1. Quadro sinótico das características macro e microscópicas que constituem a base da classificação dos estádios de maturidade, para *S. brasiliensis*

Classificação inicial (Vazzoler, 1971)		"A"	"B"		"C"		"D"	"E"
Classificação atual		A	B inicial	B final	C inicial	C final	D	R
Aspecto macroscópico	Tamanho em relação à cavidade abdominal	< 1/4	1/3	1/2	2/3 - 3/4	= toda	< 1/2	1/3
	Percepção de ovócitos	não	sim		sim		às vezes	não
	Aspectos dos ovócitos	-	opacos pequenos	opacos pequenos e grandes	opacos grandes	translúcidos grandes	-	-
	Vascularização	-	+	++	+-	-	hemorragias	++
Aspecto histológico geral		Ovócitos e lamelas de disposição regular. Ovócitos pequenos aderidos às lamelas. Basofilia.	Início da vitelogenese. Lamelas ainda pouco separadas. Basofilia predominante.	Maior diversidade celular. Aparece vitelo acidófilo. Lamelas mais distiladas.	Ovócitos maduros em grande frequência, mostram-se muito juntos uns dos outros.	Desorganização; células deformadas; boa irrigação; lamelas muito dilatadas. Hidratação geral.	Desordenado. Processos de degeneração e reabsorção. Presença de folículos vazios e corpos foliculares. Infiltração linfocitária.	Semelhante ao A; desordenado. Lamelas mais separadas.
Tipos de ovócitos presentes		Fases I e II	(I) II - III	II - III (IV) - V	(II - III) V	II - (III) VI	I - II III-IV-V-VI, em degeneração e reabsorção	I - II
Características das células germinativas mais avançadas	Citoplasma	basófilo	basófilo	acidófilo	acidófilo	acidófilo	basófilo	basófilo
	Lipídeos	-	+	++	++	+(gota única)	-	-
	Plaquetas vitelinas	-	-	+	++	homogeneização	-	-
	Folículo	-	+	++	+++	+	-	-
	Membrana pelúcida	-	-	+	++	+	-	-
	Variação do diâmetro (µm)	15 - 70	140 - 240	240 - 300	300 - 450	>450-(600)	15 - 140	15 - 140

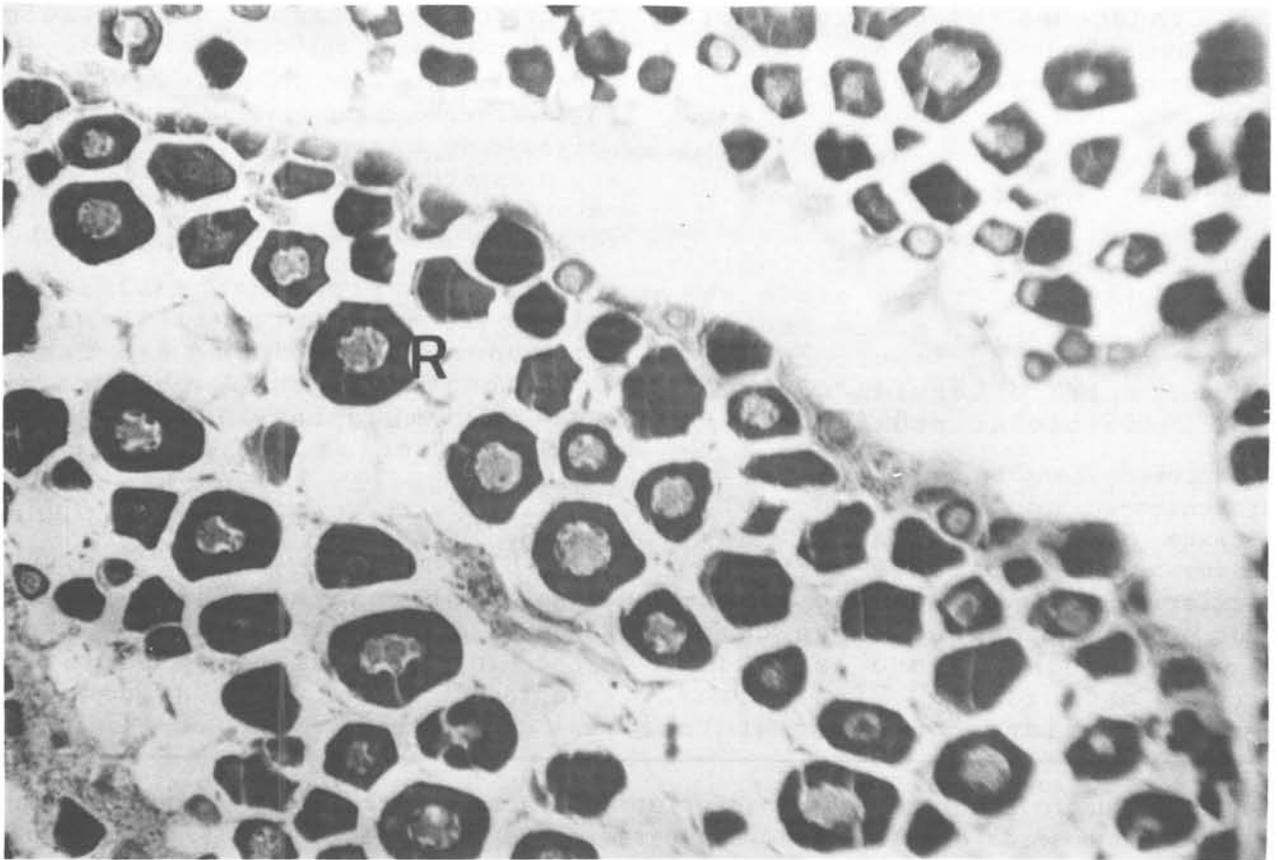


Fig. 8. Corte de ovário R, em repouso, mostrando numerosas células basófilas do estoque de reserva (R). Aum. 100 x.

### Discussão

No presente trabalho, destacam-se as características histocitológicas das gônadas femininas de *S. brasiliensis*, com a finalidade de se conhecer mais profundamente o mecanismo reprodutivo da espécie e poder estabelecer uma escala de maturidade adequada.

Neste sentido, a descrição das fases de desenvolvimento ovocitário torna-se de vital importância para compreender a dinâmica do ovário.

Yamamoto (1956) estabeleceu 11 fases evolucionárias para as células germinativas de *Liopseta obscura*, mas esta classificação parece complexa demais para o caso da sardinha.

Por outro lado, Worsmann & Mandelli (1976) classificaram as células germinativas do ovário de sardinha em três fases: células germinativas basófilas; células germinativas acidófilas, com citoplasma periférico basófilo, e células germinativas acidófilas.

As observações do presente estudo mostram que é possível se fazer uma divisão mais detalhada destas células, separando claramente alguns dos fenômenos que ocorrem

durante a ovogênese, como é o caso de vitelogênese lipídica, protéica e hialinização.

Com relação às diferentes fases das células germinativas, a maior discussão que se estabelece é a respeito da identidade das células mais jovens observadas, denominadas, neste trabalho, fase I.

Os diferentes autores discutem sobre quando e de onde ocorre a renovação destas células e sobre se elas são ovogônias ou ovócitos jovens.

Hickling (1930) assinala que nos ovários de *Merluccius hubbsi*, em recuperação, existem ovogônias, além dos ovócitos de reserva. Godinho (1972) destaca que as células mais jovens de *Pimelodus maculatus* não podem ser chamadas de gônias, pois não foram observadas em mitose, com o que concordam as observações do presente trabalho.

Yamamoto (1956) sugere que estas células derivam do folículo vazio, após a desova. Andreu & Santos Pinto (1957) e Christiansen (1971) indicam sua origem a partir do epitélio germinativo.

Para *S. brasiliensis*, como destacado, as células na fase I são observadas sem-

pre perto das lamelas ovíferas, em forma de ninhos, o que leva a pensar que estas se diferenciam a partir do epitélio germinativo, mesmo porque seu surgimento, de folículos vazios, parece improvável, uma vez que este e as células germinativas possuem origens embriológicas diferentes.

Sobre as características citológicas das células na fase II, do estoque de reserva, Worsmann & Mandelli (1976) sugerem que a intensa basofilia no citoplasma indicaria uma importante atividade de síntese protéica. Este fato e ainda a observação da dinâmica dos nucléolos durante as etapas do desenvolvimento oocitário sugerem o importante papel desempenhado pelo núcleo durante a prévitelogenese (Houillon, 1972).

Os peixes apresentam diversas modalidades na acumulação e natureza química do vitelo dos ovócitos (Andreu, 1951; Yamamoto & Yamazaki, 1961). Contudo, a separação entre vitelo lipídico e protéico considerada neste trabalho parece bastante generalizada (Christiansen, 1971).

Com respeito à membrana pelúcida dos ovócitos maduros, na maior parte das espécies, esta apresenta estriações radiais (Chaudry, 1956; Nørrevang, 1968; Isaac-Nahum, 1981), as quais, porém, não foram observadas por Worsmann & Mandelli (1976) e neste trabalho, no caso dos ovócitos de *S. brasiliensis*.

As últimas etapas de evolução dos ovócitos maduros dentro do ovário, previamente à desova, aqui denominado processo de hialinização, são também observadas em outras espécies, especialmente aquelas que possuem ovos pelágicos, sendo que a intensa absorção de água (Hickling, 1945) e a condensação de gota de lipíde (Andreu & Santos Pinto, 1957), poderiam ser entendidas como uma adaptação para a flutuação do ovo.

Com relação à ocorrência de ovócitos atrésicos, Ball (1960) acredita que a interrupção do crescimento oocitário, e a posterior atresia, é um fenômeno que possui causas diversas, tanto exógenas como endógenas.

Yamamoto & Yamazaki (1961) postulam que a presença de um grande número de células atrésicas é característica de ovários de peixes com desova do tipo parcelada.

A melhor compreensão dos fenômenos de atresia, seria de grande utilidade para

corrigir as estimativas de fecundidade.

Os corpos foliculares observados nos ovários em maturação, maduros e esvaziados são observados também para outras espécies (Andreu & Santos Pinto, 1957; Christiansen, 1971; Godinho, 1972; Hunter & Goldberg, 1980), sendo usados, em alguns casos, como indicadores de desova recente (Isaac-Nahum, 1981). Ball (1960) acha que estes corpos poderiam ser responsáveis pela produção de hormônios sexuais. Segundo Hunter & Goldberg (*op. cit.*), estes corpos proviriam de folículos pós-ovulatórios e podem ser de grande utilidade para estudos sobre ritmo de desova e fecundidade.

Considerando o exposto, a presença destes corpos nos ovários em maturação poderia ser interpretada como indicadora da existência de um tipo de desova em lotes ou parcelas. No entanto, este aspecto necessita de maiores esclarecimentos; trabalhos futuros devem aprofundar-se, particularmente, na análise dos fenômenos de recuperação após a desova parcelada, que devem ser considerados na escala de maturidade.

A grande maioria das escalas elaboradas para peixes são baseadas em critérios macroscópicos (Vazzoler, 1971; Stequert, 1976). Este tipo de classificação permite uma avaliação rápida de numerosas amostras, mas a prática tem demonstrado que os critérios macroscópicos podem, às vezes, ser, além de subjetivos, muito variáveis.

Neste sentido Nahumov (1956) salienta a importância de estudos histológicos complementando as observações a fresco.

Para *S. brasiliensis*, foram aplicadas antes apenas duas escalas, ambas baseadas em critérios macroscópicos.

A escala de quatro estádios descrita por Vazzoler (1971; 1981) e usada por Vazzoler & Rossi-Wongtschowski (1976) tem sido útil pela sua simplicidade para trabalhos rotineiros de campo, mas a análise histológica demonstrou que a mesma pode ser desdobrada, o que melhora a apreciação dos fenômenos reprodutivos.

A subdivisão dos estádios B e C proposta neste estudo, em B inicial e final, e C inicial e final, permitirá delimitar melhor as épocas de desova e facilitará a seleção de ovários para estudos sobre fecundidade.

Por outro lado, a inclusão do estádio R dará mais precisão às estimativas do comprimento médio da primeira maturação

sexual, já que, ocasionalmente, indivíduos adultos, em repouso, poderiam ser confundidos com imaturos.

A escala utilizada por Matsuura (1977) com seis estádios, apresenta algumas similaridades com a aqui proposta, com relação aos estádios em maturação, maduro e desovado. No entanto, ela não inclui nenhum estádio para o indivíduo virgem, com sexo identificável, mas que ainda não iniciou a primeira maturação: o estádio I inclui apenas os de sexo não identificável e o II os virgens em maturação. Neste último estádio, o autor inclui também os adultos em recuperação; estes ovários já apresentam, segundo a descrição, ovócitos visíveis a olho nu.

Das observações destes autores, pode-se dizer que os fenômenos típicos de "recuperação", isto é, reabsorção de restos celulares, e de hemorragias e proliferação de células germinativas jovens, ocorrem logo após a desova, no estádio "esvaziado" e, talvez, no início do "em repouso", mas não quando se reiniciar a maturação no ciclo seguinte.

Comparando-se as classificações discutidas, obtém-se:

ATUAL	VAZZOLER, 1971	MATSUURA, 1977
A	A	I
B <sub>i</sub>	B	II, III
B <sub>f</sub>	B	III
C <sub>i</sub>	C	IV
C <sub>f</sub>	C	V
D	D	VI, II
R	B	-

onde:

A, Virgem; B<sub>i</sub>, Em início de maturação; B<sub>f</sub>, Em maturação avançada; C<sub>i</sub>, Maduro inicial; C<sub>f</sub>, Maduro desovando; D, Esvaziado, e R, Repouso.

As observações histológicas permitiram também identificar ovários que, seja pela presença de corpos foliculares ou por sinais, eliminaram parte de seus ovócitos, o que é de significativa importância para o esclarecimento do tipo de desova e estimativa de fecundidade.

Estudos mais detalhados deste aspecto tornam-se necessários para o estabelecimento definitivo do tipo de desova de *S. brasiliensis*.

## Resumo

Uma melhor compreensão da dinâmica do processo reprodutivo de *Sardinella brasiliensis* é obtida através da associação de aspectos micro e macroscópicos das gônadas durante o ciclo sexual.

O presente trabalho apresenta uma descrição das fases de desenvolvimento ovocitárias e dos estádios de maturidade dos ovários de 119 fêmeas de *S. brasiliensis*, coletados na costa brasileira entre 22°S e 28°S.

São descritas seis fases ovocitárias e duas estruturas derivadas, analisando-se as características citológicas das células germinativas durante o processo de maturação.

Foram estabelecidos sete estádios: A (virgem), B<sub>i</sub> (em início de maturação), B<sub>f</sub> (em maturação avançada), C<sub>i</sub> (maduro inicial), C<sub>f</sub> (maduro desovado), D (esvaziado) e R (em repouso), sendo discutida sua correspondência com outras escalas aplicadas às espécies.

## Agradecimentos

A todos os elementos que integraram a equipe que desenvolveu os trabalhos de campo e laboratório, durante a realização do Projeto BIONEC/MEGALOSAR; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Organização dos Estados Americanos (OEA), pelo apoio financeiro; ao Dr. Phan Van Ngan e ao MSc. Vicente Gomes pelas fotomicrografias e a Sandra de Cillo Santos pela datilografia.

## Referências bibliográficas

- ANDREU, B. 1951. Consideraciones sobre el comportamiento del ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb.) en relación con el proceso de maduración y de fresa. Boln Inst. esp. oceanogr., 41:1-23.
- & SANTOS PINTO, J. dos 1957. Características histológicas y biométricas del ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb.) en la maduración, puesta y recuperación. Origen de los ovocitos. Investigación pesq., 6:3-38.

- BALL, J. N. 1960. Reproduction in female bony fishes. In: Jones, I. C. ed. - Hormones in fish. Symp. zool. Soc. Lond., 1:105-136.
- BOWER, A. B. & HOLLIDAY, F. G. T. 1961. Histological changes in gonad associated with the reproductive cycle of the herring (*Clupea harengus* L.). Mar. Res., 5:1-15.
- CHAUDHRY, H. S. 1956. The origin and structure of the zona pellucida in the ovarian eggs of teleosts. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 43:478-485.
- CHRISTIANSEN, H. E. 1971. Descripción histológica del ciclo del ovario de merluza. Boln Inst. Biol. mar., 20: 5-41.
- GODINHO, H. M. 1972. Contribuição ao estudo do ciclo reprodutivo de *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) (Pisces, Siluroidei) associado a variações morfológicas do ovário e a fatores abióticos. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, 94 p.
- HICKLING, C. F. 1930. The natural history of the hake. Fishery Invest., Lond., Ser. 2, 12(1):1-78.
- \_\_\_\_\_ 1945. The seasonal cycle in the cornish pilchard *Sardina pilchardus*, Walb. J. mar. biol. Ass. U. K., 26(2):115-133.
- HOUILLON, C. 1972. Sexualidade. São Paulo, Edgar Blucher, 171 p.
- HUNTER, J. R. & GOLDBERG, S. R. 1980. Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy *Engraulis mordax*. Fish. Bull., 77(3):641-652.
- ISAAC-NAHUM, V. J. 1981. Biologia reprodutiva de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Teleostei, Sciaenidae). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 157 p.
- MATSUURA, Y. 1977. O ciclo de vida da sardinha-verdadeira (Introdução à oceanografia pesqueira). Publicação esp. Inst. oceanogr., S Paulo, (4):1-146.
- NAHUMOV, V. M. 1956. The ovogenesis and ecology of the sexual cycle of the Murmansk herring (*Clupea harengus harengus* L.) Spec. Scient. Rep. U. S. Fish. Wildl. Serv. Fisheries, 327:203-262.
- NØRREVANG, A. 1968. Electron microscopic morphology of oogenesis. Int. Rev. Cytol., 23:113-183.
- ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B.; VAZZOLER, A. E. A. de M. & BRAGA, F. M. de S. 1982. Estudos sobre estrutura, ciclo de vida e comportamento de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), na área entre 22°S e 28°S, Brasil. 1. Morfologia dos otólitos. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 31(2):57-76.
- STEQUERT, B. 1976. Étude de la maturité sexuelle, de la ponte et de la fécondité du listao (*Katsuwonus pelamis*) de la côte nord-ouest de Madagascar. Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Océanogr., 14(3): 227-247.
- VAZZOLER, A. E. A. de M. 1971. Diversificação fisiológica e morfológica de *Micropogon furnieri* (Desmarest, 1822) ao sul de Cabo Frio, Brasil. Bolm Inst oceanogr., S Paulo, 20(2): 1-70.
- \_\_\_\_\_ 1981. Manual de métodos para estudos biológicos de populações de peixes. I - Reprodução e crescimento. CNPq/PN2. sér. Metodologia, 108 p.
- \_\_\_\_\_ & ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B. 1976. *Sardinella brasiliensis*: tipo de desova, fecundidade e potencial reprodutivo relativo. I - Área entre 22°40'S e 24°20'S, Brasil. Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 25:131-155.
- WORSMANN, T. U. & MANDELLI, M. Q. 1976. Observações morfológicas sobre o processo de maturação do ovário de *Sardinella brasiliensis*. Revta bras. Biol., 36(2):347-352.
- YAMAMOTO, K. 1956. Studies on the formation of fish eggs. I - Annual cycle in the development of ovarian eggs in the flounder, *Liopseta*

*obscura*. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.  
Ser. 6, Zool., 12(3):362-373.

YAMAMOTO, K. & YAMAZAKI, F. 1961.  
Rhythm of development in oocyte of  
the gold fish *Carassius auratus*.  
Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.,  
12(2):93-101.

(Recebido 27-abr-1982;  
aceito 28-ago-1982)