



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

ARIENE CRISTINA DIAS GUIMARÃES

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DA OOGÊNESE
EM *Serrasalmus spilopleura*
(TELEOSTEI, CHARACIFORMES,
SERRASALMINAE)

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo (a) candidato (a) Ariene Cristina Dias Guimarães

07/04/2000

Se aprovada pela Comissão Julgadora.

Irani Quagio Grassiotto

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para a obtenção do título de Mestre em Biologia Celular e Estrutural na área de: Biologia Celular.

Orientadora: Profa. Dra. IRANI QUAGIO-GRASSIOTTO

2000

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



2000.0634

UNIDADE BC
 N.º CHAMADA: T/UNICAMP
G-947a
 V. 0 Ex. 1
 TOMBO BC/ 41573
 PROC. 278/00
 C ☐ D ☒
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 14-07-00
 N.º OPD

CM-00142215-2

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

Guimarães, Ariene Cristina Dias

G947a Análise ultraestrutural da oogênese em *Serrasalmus spilopleura*
 (Teleostei, Characiformes, Serrasalminae)/Ariene Cristina Dias
 Guimarães. - - Campinas, SP. [s.n.], 2000.
 102f. ilus.

Orientadora: Irani Quagio-Grassiotto
 Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas,
 Instituto de Biologia.

1. Peixes. 2. Oogênese. 3. Ultraestrutura. I. Quagio-Grassiotto,
 Irani. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.
 III. Título.

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DA OOGÊNESE EM
Serrasalmus spilopleura
(TELEOSTEI, CHARACIFORMES, SERRASALMINAE)

ARIENE CRISTINA DIAS GUIMARÃES

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
para a obtenção do título de Mestre em
Biologia Celular e Estrutural na área de:
Biologia Celular.

Orientadora: Profa. Dra. IRANI QUAGIO-GRASSIOTTO
DEPTO. DE MORFOLOGIA - IB - BOTUCATU - UNESP/CAUNESP

Agência Financiadora:

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (FAPESP).

Proc. No. 98/00900-0.

2000

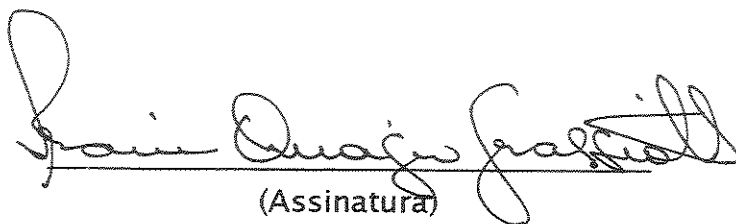
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Data da Defesa: 07/04/2000

Banca Examinadora

Titulares:

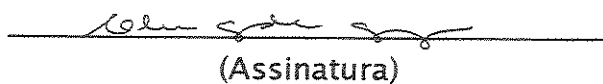
Profa. Dra. Irani Quagio-Grassiotto


(Assinatura)

Profa. Dra. Mary Anne Heidi Dolder


(Assinatura)

Profa. Dra. Elisa Aparecida Gregório


(Assinatura)

Suplente:

Profa. Dra. Sônia Nair Bão

(Assinatura)

Família, base de qualquer felicidade.
Nunca pode faltar.
Seja nas horas fáceis ou nas horas
difíceis.
Como poderíamos viver sem a base
de tudo.
Não sei.
Espero nunca experimentar sua
falta.

Aos meus pais Crismene e Ariel.

*Aos meus avós Eliane (Jeanine)
e Hédio Dias.*

*Aos meus avós Maria Emirene e
Ary Nora Guimarães (in
memorian).*

Não poderia deixar de dedicar esse trabalho a sua pessoa, pois cada sílaba que o compõe faz parte de uma trajetória seguida por nós com muito esforço, paciência e dedicação de sua parte. Parabéns!!!

A cada dia você consegue ser, não só para mim mas para muitos, um exemplo de profissional, de orientadora, de professora, de coordenadora.

Do fundo do meu coração, as palavras me faltam para expressar o tamanho da minha gratidão e do orgulho que tenho em poder trabalhar com você, contar com a Dra. Frani ou com a Frani nas horas previsíveis e imprevisíveis dessa vida.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Frani Quaglio-Grassiotto pela orientação e demais dedicações. Mais do que orientadora, um pouco mãe, amiga, psicóloga, sem a qual não teria conseguido passar por dificuldades e por fim alcançar esse feito.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica, FB - Unesp - Botucatu, na pessoa da supervisora, Profa. Dra. Elisa Aparecida Gregório, pelo uso das instalações para o desenvolvimento desse trabalho.

Aos funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica, FB - Unesp - Botucatu, Nivalde Antonio Basso, Maria Helena Moreno, Maria Euleda Lino Peres, Evelyn Margaret H. Brino e Carlos Aparecido Campos, pela presteza, sem a qual não seria possível a realização da parte prática desse trabalho.

À Sra. Maria Helena Moreno pela especial paciência na confecção das elétromicrografias.

Ao Prof. Dr. Edmir Daniel Carvalho pelo auxílio no trabalho de campo e amizade.

Aos técnicos do Laboratório de Rotina em Biologia Celular e Morfologia de Gônadas de Peixes do Depto. de Morfologia, FB, Unesp - Botucatu, Sr. Ricardo André dos Santos Teixeira e Sr. Antônio Vicente Salvador pela colaboração e amizade.

À Sra. Terezinha Biondo Sauer pela presteza, colaboração e amizade.

Às funcionárias da Secretaria do Depto. de Morfologia, FB, Unesp - Botucatu, Srta. Patrícia Luciane Souza Ramos e Srta. Luciana Cristina Montes pelos auxílios.

Ao Departamento de Morfologia, FB, Unesp - Botucatu, pela oportunidade de utilização das instalações e por tão bem acolher-me nos últimos seis anos.

Ao Prof. Dr. Luis Antonio Toledo e Profra. Ms. Cláudia Helena Pelizzon pelos ensinamentos durante os estágios docência.

Aos funcionários e professores do curso de pós-graduação do FB, Unesp – Botucatu, pela atenção nos momentos necessários.

À Profra. Dra. Mary Anne Heidi Dolder, à Profra. Dra. Elisa Aparecida Gregório e à Profra. Dra. Sônia Nair Bão pelas sugestões feitas no decorrer da banca prévia.

Aos professores do curso de pós-graduação em Biologia Celular – FB – Unicamp, pelos ensinamentos, dedicação e amizade.

Ao Depto. de Biologia Celular FB – Unicamp pela oportunidade de realizar esse curso de pós-graduação.

À Unicamp pela utilização de suas instalações de moradia durante o primeiro semestre de 1998.

Aos funcionários da secretaria do Depto. de Biologia Celular FB – Unicamp, Sra. Liliam Alves Senne Panagio e Sr. Sidnei Henrique Simões, por preciosos serviços prestados, paciência e amizade.

À Fapesp pelo apoio financeiro destinado à esse trabalho.

À Caunesp pelo suporte técnico no período de coletas.

Aos colegas do curso de pós-graduação em Biologia Celular – FB – Unicamp, pelos momentos agradáveis ao longo do curso.

À todos os colegas de pós-graduação e graduação do Depto. de Morfologia, FB – Unesp – Botucatu, pelos bons momentos de convivência nos últimos dois anos.

À amiga, colega de graduação e pós-graduação, companheira de festas, Érika, quem muito me ajudou nessa ponte terrestre Campinas – Botucatu.

À PAULA e à CAROL que me provaram, nos últimos dois anos, que a amizade verdadeira supera todas as diferenças, e que as últimas podem ser complementares quando sabemos aceitá-las.

Ao meu eterno grande amigo, HOMER, à quem devo algo, desde a época da monografia. Obrigada por tudo

Às minhas amigas campineiras de sempre Alessandra e Cristiane.

Às amigas Nereide e Ciléa pelo companheirismo dos últimos tempos.

À amiga Luciana, quem por vezes dedicou seu tempo para me ouvir.

À família Moretto, em especial à D. Deolinda, por tão bem me acolher por tempos durante esse trabalho.

À família Lemos, que sempre me acolheu como filha nessas andanças campineiras.

À Tânia e ao Jonas, pela agradável amizade.

Aos meus Avós, Tios e Primos que sempre acreditaram e confiaram em mim.

À Diana, à Sassa, à Rayana, à Pupy e ao Veinbo pelo carinho, amor e amizade.

Aos meus Pais que mais uma vez confiaram na minha capacidade de aqui chegar. Sempre com muito amor, carinho e amizade, me transmitiram força e segurança, principalmente para superar os momentos mais difíceis. Esse trabalho é de vocês.

À Deus por ter nos dado a vida, por nos provar a cada dia ainda mais, o quanto ela é grandiosa e valiosa, e por colocar pessoas maravilhosas ao nosso lado.

Sumário

Resumo.....	I
Abstract.....	III
Introdução.....	1
Material e Métodos.....	20
Material.....	21
Métodos.....	22
Resultados.....	25
1) Oogênese.....	26
1.1) Oogônias.....	26
1.2) Oócitos Primários Iniciais.....	27
2) Crescimento Primário.....	27
2.1) Oócitos Pré-vitelogênicos.....	28
3) Crescimento Secundário.....	29
3.1) Oócitos com Alvéolos Corticais em Formação.....	30
3.2) Oócitos em Vitelogênese.....	31
3.3) Oócito em Vitelogênese Final.....	33
Células Produtoras de Esteróides e Tecido Intersticial....	34
Microscopia Eletrônica de Varredura.....	35
Documentação.....	36

Discussão.....	54
Conclusões.....	67
Referências Bibliográficas.....	70

RESUMO

A ultraestrutura do desenvolvimento oocitário em *Serrasalmus spilopleura* (Teleostei, Characiformes, Serrasalminae), foi estudada em gônadas de fêmeas sexualmente maduras, coletadas mensalmente de março de 1998 a fevereiro de 1999 no reservatório de Jurumirim, Alto do Rio Paranapanema, SP.

Nos ovários de *S. spilopleura*, as oogônias são encontradas em ninhos, inseridos nas lamelas ovígeras. São células pequenas com núcleo grande e nucléolo único. Entram em oogênese, dando origem aos oócitos primários iniciais que se desenvolvem progressivamente em oócitos pré-vitelogênicos, oócitos com alvéolos corticais em formação, oócitos em vitelogênese e oócitos em vitelogênese final. No núcleo dos oócitos primários iniciais se organizam os complexos sinaptonêmicos. Terminada a troca gênica, os oócitos diplotênicos são envolvidos por células pré-foliculares, deixam os ninhos, e entram em crescimento primário. No interior dos folículos, os oócitos pré-vitelogênicos crescem em volume devido ao aumento progressivo das organelas citoplasmáticas. Neles surgem vesículas não elétron-densas na região citoplasmática cortical e tem início a formação da zona radiata. O envoltório folicular é constituído por células foliculares pavimentosas, uma fina lâmina basal e a teca, cujas células são alongadas. Entrando em crescimento secundário, os oócitos

com alvéolos corticais em formação apresentam estruturas vesiculares, de conteúdo filamentoso, na região citoplasmática cortical, as quais fundem-se entre si e com as vesículas não elétron-densas formadas na etapa anterior. Tais vesículas são precursoras dos alvéolos corticais. A zona radiata torna-se mais espessa. O envoltório folicular mantém o padrão descrito, porém, a lâmina basal se desenvolve. Nos oócitos em vitelogênese, além dos precursores dos alvéolos corticais, surgem grânulos de conteúdo elétron-denso, os quais fundem-se formando os grânulos de vitelo. Nestes, a zona radiata encontra-se totalmente formada e organiza-se em três camadas de diferentes elétron-densidades. As células foliculares tornam-se menos alongadas e com espaços intercelulares dilatados, enquanto a teca e a lâmina basal mantêm o padrão anterior. Nos oócitos em vitelogênese final, os grânulos de vitelo espalham-se por todo o citoplasma e deslocam os alvéolos corticais para a periferia da célula. A zona radiata conserva a estrutura tripartida. As células foliculares apresentam-se cúbicas, as da teca permanecem alongadas e recobertas por um epitélio pavimentoso.

ABSTRACT

The ultrastructure of oocyte growth in the gonads of sexually mature *Serrasalmus spilopleura* (Teleostei, Characiformes, Serrasalminae) was studied. These were collected monthly from the Jurumirim reservoir, Alto Paranapanema River, SP, between March 1998 and February 1999.

The oogonia in *S. spilopleura* are found in nests in the ovaries, inside the ovigerous lamellae. The oogonia are small cells with large nuclei and a single nucleolus. They enter oogenesis, giving rise to primary oocytes, which progressively evolve into pre-vitellogenic oocytes, oocytes with cortical alveoli formation, oocytes undergoing vitellogenesis, and oocytes in final vitellogenesis. Synaptonemal complexes are formed in the nucleus of early primary oocytes. At the end of crossing-over, the diplotenic oocytes are surrounded by pre-follicular cells, leave the nests, and begin primary growth. The pre-vitellogenic oocytes inside the follicles increase in volume due to the progressive increase of cytoplasmic organelles. In these oocytes, clear vesicles appear in the cortical cytoplasmic region, and the zona radiata begins to form. The follicular envelope consists of squamous follicular cells, a thin basal lamina, and the theca, which has elongated cells. The secondary growth corresponds to the period in which the oocytes with growing cortical alveoli show vesicular structures with a filamentous content in the cortical cytoplasmic region. These vesicular structures fuse with each other and with the clear vesicles. These vesicular structures are the precursors of

the cortical alveoli. The zona radiata becomes thicker, the follicular envelops maintains its pattern, but the basal lamina develops. As well as the precursors of the cortical alveoli, electron-dense granules form in oocytes undergoing vitellogenesis. These fuse and form yolk granules. The zona radiata is completely formed and arranged in three layers of different electron-densities. The follicular cells become less elongated, with dilated intercellular spaces. The theca and basal lamina show the same pattern. In the oocytes undergoing final vitellogenesis, the yolk granules are scattered throughout the cytoplasm, displacing the growing cortical alveoli toward cell periphery. The zona radiata maintains its tripartite structure. The follicular cells are cubical; the theca cells are elongated and covered with a squamous epithelium.

Os peixes teleósteos são predominantemente dióicos e, na sua maioria, a reprodução é cíclica, ajustada aos fatores ambientais e/ou sazonais, com as gônadas passando por uma série de modificações morfofisiológicas ao longo do ano (NAGAHAMA, 1983).

Nesses animais, o ovário é um órgão par, cavitário, de formato alongado, situado na região dorsocaudal da cavidade celomática, à qual se prende através do mesovário. Suas extremidades anteriores são livres e suas extremidades posteriores prolongam-se em dois curtos ovidutos, os quais desembocam em um poro genital único. É envolto por uma túnica albugínea, formada por um epitélio pavimentoso simples (serosa) e um tecido conjuntivo fibro-elástico, no qual se inserem fibras musculares lisas (TAKANO, 1968; GURAYA *et al.*, 1975; BRUMMETT *et al.*, 1982; ISAAC-NAHUM *et al.*, 1983; KOYA *et al.*, 1995; LAHNSTEINER *et al.*, 1997). Lamelas ovígeras, constituídas por dobras digitiformes de tecido conjuntivo, projetam-se na cavidade ou lúmen ovariano (GURAYA *et al.*, 1975; BRUMMETT *et al.*, 1982; KOYA *et al.*, 1995). Estas encontram-se revestidas por epitélio simples que contém as células germinativas iniciais e os folículos (KOYA *et al.*, 1995). Em algumas espécies o epitélio que reveste o lúmen ovariano é cúbico simples (TAKANO, 1968; LAHNSTEINER *et al.*, 1997).

Nos ovários, o desenvolvimento das células germinativas ocorre no interior de folículos, formados pelos oócitos e pelo envoltório folicular (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996).

As etapas desse desenvolvimento são classificadas de diferentes maneiras, em relação às alterações da morfologia oocitária (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; CHAVES & VAZZOLER, 1984; GURAYA, 1986; BEGOVAC & WALLACE, 1988; SELMAN & WALLACE, 1989; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; BAZZOLI & RIZZO, 1990; WEST, 1990; RIZZO & BAZZOLI, 1993; BAZZOLI *et al.*, 1996; TYLER & SUMPTER, 1996). Esse tipo de classificação é útil para o entendimento dos eventos celulares que ocorrem durante a oogênese e o crescimento oocitário, e servem como base para experimentos e comparações sobre a biologia da reprodução das várias espécies de peixes (BEGOVAC & WALLACE, 1988). A nomenclatura dessa classificação não é uniforme e diferentes denominações têm sido utilizadas para o mesmo tipo de oócito, tais como:

- Oócito Primário Inicial, Oócito Primário (DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989), Oócito Jovem (BAZZOLI & RIZZO, 1990; RIZZO & BAZZOLI, 1993), Oócito Cromatina-nucléolo ou Cromatina Nucleolar (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; CHAVES & VAZZOLER, 1984; WEST, 1990);
- Oócito Pré-vitelogênico (BAZZOLI & RIZZO, 1990; RIZZO & BAZZOLI, 1993), Oócito Perinucleolar (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; CHAVES & VAZZOLER, 1984; WEST, 1990);
- Oócito com Alvéolos Corticais em Formação (WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983; WEST, 1990), Oócito Alvéolo Cortical (SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996);

- Oócito em Vitelogênese (SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996), Oócito com Glóbulos de Vitelo (BAZZOLI & RIZZO, 1990);
- Oócito em Vitelogênese Final, Oócito em Maturação (SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996).

A origem das células germinativas dos teleósteos tem sido proposta como: do epitélio do lúmen (BULLOUGH, 1942; TYLER & SUMPTER, 1996) ou epitélio germinativo do ovário (SELMAN & WALLACE, 1989); e do tecido conjuntivo do estroma, abaixo do epitélio germinal (BRUMMETT *et al.*, 1982) ou daquele que envolve o epitélio germinativo do ovário (SELMAN & WALLACE, 1989). Em *Fundulus heteroclitus*, Fundulidae parecem ter origem tanto do tecido epitelial quanto mesenquimal (SELMAN & WALLACE, 1989). Em *Syngnathus scovelli*, Syngnathidae, a origem é tida apenas como do epitélio germinativo do ovário (SELMAN & WALLACE, 1989). Já a origem das células pré-foliculares é tida como sendo tanto mesenquimal, quanto epitelial (SELMAN & WALLACE, 1989).

Qualquer que seja a origem exata das células germinativas, em todos os vertebrados estas são derivadas de células germinativas primordiais que não se dividiram durante os primeiros estágios da embriogênese. Na maioria desses animais ocorre um número de oogônias que é espécie-específico, pré-definido nos ovários dos embriões ou larvas. Entretanto, nos peixes teleósteos e anfíbios, a capacidade mitótica das oogônias persiste no ovário do adulto, e a produção de oócitos mantém-se ao longo

de toda a vida do animal (TYLER & SUMPTER, 1996).

As células germinativas iniciais (oogônias e oócitos primários) são encontradas em grupos, associadas às células somáticas pré-foliculares, formando verdadeiros ninhos nas lamelas ovígeras (BRUSLÉ, 1980; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990).

As descrições das oogônias nas várias espécies de teleósteos estudadas as apontam como as menores células da linhagem germinativa feminina (DE VLAMING, 1983; CHAVES & VAZZOLER, 1984, MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; SELMAN & WALLACE, 1989; BAZZOLI & RIZZO, 1990; RIZZO & BAZZOLI, 1993; TYLER & SUMPTER, 1996).

Estas, nas espécies estudadas, são células de formato oval a arredondado (BRUSLÉ, 1980; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; FLORES & BURNS, 1993), com citoplasma escasso, sistema de endomembranas pouco desenvolvido (YAMAMOTO, 1964; BRUSLÉ, 1980; FLORES & BURNS, 1993), mitocôndrias, arredondadas ou ovaladas, em quantidades variadas, associadas ou não a "nuages" (YAMAMOTO, 1964; BRUSLÉ, 1980; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; FLORES & BURNS, 1993). Têm núcleo grande, contém de um (YAMAMOTO, 1964; ANDERSON, 1968; BRUSLÉ, 1980; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; FLORES & BURNS, 1993; RIZZO & BAZZOLI, 1993) a dois nucléolos (ANDERSON, 1968; BRUSLÉ, 1980; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; FLORES & BURNS, 1993), cromatina com diferentes padrões de compactação (YAMAMOTO, 1964; ANDERSON, 1968; BRUSLÉ, 1980; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; FLORES & BURNS, 1993; RIZZO & BAZZOLI, 1993) e envoltório nuclear com

grande quantidade de poros (YAMAMOTO, 1964; FLORES & BURNS, 1993).

Nos ninhos as oogônias multiplicam-se por mitose e entram em meiose dando origem aos oócitos primários. Esse período do desenvolvimento das células germinativas femininas é denominado OOGÊNESE (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996). Entende-se por oócitos primários iniciais aqueles que encontram-se nas primeiras etapas da prófase I (BEGOVAC & WALLACE, 1988; SELMAN & WALLACE, 1989).

Durante a prófase I, no núcleo dos oócitos os cromossomos homólogos iniciam o processo de condensação e pareamento, mediado pela formação dos complexos sinaptonêmicos (leptóteno, zigóteno). Os oócitos primários, pré-leptotênicos e leptotênicos, são células pequenas, com citoplasma escasso, núcleo centralizado e nucléolo único (WEST, 1990). Em zigóteno e paquíteno apresentam núcleo menos elétron-denso do que o das oogônias, e no zigóteno ainda possuem nucléolo. Os complexos sinaptonêmicos são mais curtos e em formação no zigóteno, mais alongados e completos no paquíteno (BEGOVAC & WALLACE, 1988). Os pares homólogos encurtam, espessam e efetuam a troca gênica (paquíteno). Os complexos sinaptonêmicos deixam de existir, e os cromossomos homólogos tornam-se plumulados (diplóteno) (BEGOVAC & WALLACE, 1988).

No citoplasma dos oócitos primários iniciais as organelas aumentam em número e localizam-se em agregados juxt nucleares (BEGOVAC & WALLACE, 1988). Os oócitos primários iniciais, em diplóteno, etapa na qual

permanecem até o final da maturação, são individualmente envoltos por uma camada de células somáticas pavimentosas, as células pré-foliculares, formando os folículos primordiais (DE VLAMING, 1983; WALLACE & SELMAN, 1981; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990).

No interior dos folículos tem início o CRESCIMENTO PRIMÁRIO DOS OÓCITOS. As características nucleares nessa fase permitem sua classificação em dois estágios sequenciais, que recebem diferentes denominações: de cromatina nucleolar e perinucleolar (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990); ou estágio II a e estágio II b (BEGOVAC & WALLACE, 1988); ou ainda oócito jovem ou primário e pré-vitelogênico (BAZZOLI & RIZZO, 1990; RIZZO & BAZZOLI, 1993). Os oócitos primários iniciais não são detectados com facilidade, de forma que alguns autores não os diferenciam daqueles denominados perinucleolares (DE VLAMING, 1983), ou em estágio II (ANDERSON, 1967), ou em estágio 2 (YAMAMOTO, 1964; BRUSLÉ, 1980), ou primários (TYLER & SUMPTER, 1996) ou basófilos do estoque de reserva (CHAVES & VAZZOLER, 1984).

Na fase de CRESCIMENTO PRIMÁRIO, na qual oócitos passam a ser denominados perinucleolar (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990) ou pré-vitelogênicos (BAZZOLI & RIZZO, 1990; RIZZO & BAZZOLI, 1993), ocorre um aumento significativo do volume oocitário e diminuição acentuada da relação núcleo-citoplasma (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983). Nesse estágio, surgem múltiplos nucléolos na região periférica do núcleo (YAMAMOTO, 1964;

DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; BEAMS & KESSEL, 1973; SHACKLEY & KING, 1977; CRUZ-LANDIN & CRUZ-HÖFLING, 1979; BRUSLÉ, 1980; BARBIERI & BARBIERI, 1985; LOPES *et al.*, 1987; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; BAZZOLI & RIZZO, 1990). Os cromossomos plumulados tornam-se mais visíveis (NAGAHAMA, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989), indicando a intensa atividade de transcrição de RNA heterogêneo nuclear em adição ao RNA ribossomal, promovida pelos múltiplos nucléolos (SELMAN & WALLACE, 1989). O envelope ou envoltório nuclear contém grande quantidade de poros que dão passagem à material elétron-denso, o qual se acumula no citoplasma perinuclear, formando as “nuages” (YAMAMOTO, 1964; DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; BEGOVAC & WALLACE, 1988; BEAMS & KESSEL, 1973; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1979; BRUSLÉ, 1980; WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989). As “nuages” são estruturas comuns às células germinativas iniciais, tanto femininas como masculinas (EDDY, 1975), e são formadas principalmente por ribonucleoproteínas (CLÉROT, 1976; TOURY *et al.*, 1977; GURAYA, 1979). Frequentemente associadas às “nuages”, aparecem “lamellae anulata”, estruturas formadas por cisternas membranosas, empilhadas e dotadas de poros, semelhantes aos poros nucleares. Assim como as “nuages”, as “lamellae anulata” são estruturas comuns às células germinativas femininas e masculinas, e parecem estar associadas à mobilização de RNAs de longa duração (KESSEL, 1981; KESSEL *et al.*, 1984).

Outra característica dessa fase é a formação do núcleo de vitelo,

também denominado de corpúsculo de Balbiani (HUBBARD, 1894 *apud* SELMAN & WALLACE, 1989). Muitos autores descrevem o corpúsculo de Balbiani como sendo um acúmulo de material granular, de afinidade tintorial diferenciada, na região citoplasmática periférica ao núcleo (NAYYAR, 1964; YAMAMOTO, 1964; DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; ULRICH, 1969; BEAMS & KESSEL, 1973; GURAYA, 1979; WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983; BEGOVAC & WALLACE, 1988; COELLO & GRIMM, 1990; BAZZOLI & GODINHO, 1995; TYLER & SUMPTER, 1996). Esse material granular, além de RNA e proteínas, contém lipoproteínas, corpos de fosfolipídeos e lipídeos (GURAYA, 1979). Ultraestruturalmente, o corpúsculo de Balbiani é um complexo composto por uma população heterogênea de organelas citoplasmáticas, incluindo mitocôndrias, corpos multivesiculares, retículo endoplasmático, elementos do Golgi, juntamente com material fibrogranular (TYLER & SUMPTER, 1996). Inicialmente perinuclear, o corpúsculo de Balbiani se desloca para o citoplasma periférico, onde se dispersa (DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989).

Supõe-se que essa estrutura esteja envolvida na biogênese das organelas membranosas durante o crescimento primário dos oócitos (GURAYA, 1986).

Nos folículos, os oócitos pré-vitelogênicos encontram-se sequencialmente envoltos por uma camada de células foliculares pavimentosas, lâmina basal e uma camada de células oriundas do tecido conjuntivo, as células da teca (WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983;

GURAYA, 1986).

Concomitante ao CRESCIMENTO PRIMÁRIO, surge uma fina camada acelular ao redor do oócito (ANDERSON, 1967). Essa camada, chamada zona radiata, zona pelúcida, envelope primário ou envelope vitelino coriônico (CHAUDHRY, 1956; ANDERSON, 1968; ULRICH, 1969; AZEVEDO, 1974; WOURMS, 1976; TESORIERO, 1977; NAGAHAMA, 1983; RIEHL, 1984), continua se desenvolvendo ao longo de todo o crescimento oocitário (TYLER & SUMPTER, 1996). Nesse período, a zona radiata é formada por pequenas microvilosidades que se projetam na superfície oocitária, bem como na superfície das células foliculares e, entre as quais tem início a deposição de substância amorfa (WALLACE & SELMAN, 1981; SELMAN & WALLACE, 1989).

O CRESCIMENTO SECUNDÁRIO dos oócitos, ou fase de crescimento gonadotrofina-dependente (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; GURAYA, 1986) tem início com o aparecimento dos alvéolos corticais (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; GURAYA, 1986; SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996), ou precursores dos alvéolos corticais (DE VLAMING, 1983; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; WEST, 1990). Esse estágio é comumente nomeado de alvéolo cortical (SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996) ou oócitos com alvéolos corticais (BAZZOLI & RIZZO, 1990; RIZZO & BAZZOLI, 1993)

Os alvéolos corticais são também denominados de: vesículas de vitelo (YAMAMOTO, 1964; NAGAHAMA, 1983; SELMAN *et. al.*, 1988), vesículas corticais, vitelo intravesicular ou vitelo endógeno (SELMAN & WALLACE, 1989).

Estes são estruturas esféricas, em quantidade e tamanhos diferentes, dependendo da espécie. Surgem inicialmente no citoplasma periférico do oócito, passando a preenchê-lo quase que completamente (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; GURAYA, 1986; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996).

Apresentam membrana única (YAMAMOTO, 1964; SELMAN *et. al.*, 1988; BEGOVAC & WALLACE, 1988) e contém material de aparência fibrosa (YAMAMOTO, 1964) ou flocada (ANDERSON, 1968).

Podem também possuir um nucleóide elétron-denso, que ocorre em todos ou apenas em alguns dos alvéolos corticais do mesmo oócito (DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; ULRICH, 1969; IWAMATSU & KEINO, 1978; BEGOVAC & WALLACE, 1988; BAZZOLI & GODINHO, 1994). O significado de duas populações dessa organela não está claro, e a função dos nucleóides elétron-densos ainda deve ser elucidada (WALLACE & SELMAN, 1981).

A síntese do conteúdo dos alvéolos corticais, que responde a colorações específicas para proteínas e carboidratos (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996), parece ocorrer no interior dos oócitos, ou seja, são produzidos endogênicamente e, é opinião comum que organelas como retículo endoplasmático e complexo de Golgi estejam envolvidas nessa síntese (ANDERSON, 1968; TESORIERO, 1980; WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996).

Quando os oócitos atingem a maturação, os alvéolos corticais colocam-se na região periférica do citoplasma, no espaço entre a zona radiata e a massa ou grânulos de vitelo, denominado espaço perivitelínico (WALLACE & SELMAN, 1981; KOBAYASHI, 1985; SELMAN *et al.*, 1988; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990). Essa disposição permite que, durante o processo de fertilização, o conteúdo dos alvéolos corticais seja liberado, atuando no processo de endurecimento do envelope vitelino (TYLER & SUMPTER, 1996) e prevenindo a poliespermia (OHTA *et al.*, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996).

Os alvéolos corticais não são vitelínicos, em “stricto sensu”, desde que não servem como material nutritivo para o embrião (WEST, 1990). Portanto, sua designação como “vesícula de vitelo” é considerada incorreta (SELMAN & WALLACE, 1989).

Nesse estágio, o núcleo apresenta uma membrana irregular, com poros e com chanfraduras nas quais localizam-se os nucléolos (YAMAMOTO, 1964; ANDERSON, 1968; LOPES *et al.*, 1987; BAZZOLI & RIZZO, 1990).

Outra característica dos oócitos com alvéolos corticais em formação é a inclusão de corpos lipídicos, que continuam nos próximos estágios da vitelogênese (TYLER & SUMPTER, 1996). Ao microscópio ótico os corpos lipídicos confundem-se com os alvéolos corticais (SELMAN & WALLACE, 1989). A deposição de lipídio nos oócitos dos diferentes teleósteos é variável e em algumas espécies não ocorre (TYLER & SUMPTER, 1996).

Nesse estágio desenvolve-se a zona radiata propriamente dita,

também denominada envelope vitelino, envelope primário, córion, zona pelúcida, membrana vitelina ou corona radiata (YAMAMOTO, 1963; DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1967; HIROSE, 1972; TESORIERO, 1977; LAALE, 1980; LOPES *et al.*, 1982; 1987; BEGOVAC & WALLACE, 1988; COTELLI *et al.*, 1988; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; WEST, 1990). Para alguns autores a zona radiata possui um papel essencial na "difusão gasosa" (GRIERSON & NEVILLE, 1981), na proteção física e na regulação da entrada de espermatozóides na célula germinativa feminina (GRIERSON & NEVILLE, 1981; COTELLI *et al.*, 1988).

Na zona radiata, o aumento em extensão das microvilosidades é acompanhado pela deposição progressiva de substância amorfa ao redor das mesmas. O processo resulta na formação de poros ou canalículos, pelos quais se estendem as microvilosidades (DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1967; LAALE, 1980; BEGOVAC & WALLACE, 1988; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989). Entre as microvilosidades do oócito e as das células foliculares se formam junções comunicantes (TOSHIMORI & YASUZUMI, 1979). A substância amorfa se organiza frequentemente em duas camadas, sendo, na maioria das vezes, a externa menos elétron-densa do que a interna (DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1967; WOURMS, 1976; LAALE, 1980; BEGOVAC & WALLACE, 1988; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989).

Entende-se que a zona radiata nos teleósteos é sintetizada pelo oócito (ANDERSON, 1967; WOURMS, 1976; TESORIERO, 1977). Porém tem sido sugerido que a maior parte de suas proteínas seja produzida pelas células

foliculares (BEGOVAC & WALLACE; 1989).

Os oócitos na fase de alvéolos corticais estão envoltos por uma camada de células foliculares, lâmina basal e uma camada de células da teca (BEGOVAC & WALLACE, 1988; RIZZO & BAZZOLI, 1990). Nas células foliculares, que permanecem pavimentosas, mitocôndrias, complexo de Golgi e retículo endoplasmático são abundantes (BEGOVAC & WALLACE, 1988).

A célula micropilar diferencia-se nesse estágio entre as células foliculares, no polo animal do oócito; e está envolvida na formação da micrópila (KOBAYASHI & YAMAMOTO, 1985; BEGOVAC & WALLACE, 1988; NAKASHIMA & IWAMATSU, 1989, 1994).

A maioria dos ovos dos peixes teleósteos possui uma única micrópila, que é uma depressão, localizada na zona radiata, próxima ao polo animal. A micrópila dirige o núcleo espermático para a fusão com o núcleo do oócito, no momento da fertilização (NAKASHIMA & IWAMATSU, 1989).

Nos oócitos em desenvolvimento a célula micropilar obstrui a depressão na zona radiata e permanece associada ao envoltório folicular na ovulação (KOBAYASHI & YAMAMOTO, 1985).

A próxima etapa do CRESCIMENTO SECUNDÁRIO dos oócitos é denominada vitelogênese. Nessa fase os oócitos aumentam em volume devido ao acúmulo de vitelo (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996).

O acúmulo de vitelo está relacionado principalmente com a pinocitose de proteínas extra ovarianas, que são processadas e embaladas

no interior dos oócitos (TYLER & SUMPTER, 1996).

No processo de vitelogênese, a vitelogenina (precursora da proteína vitelínica) sintetizada e secretada pelo fígado, sob efeito de estrógeno circulante, é entregue via circulação na superfície dos oócitos em crescimento, capturada por endocitose mediada por receptores, translocada para o citoplasma; quebrada por proteólise em lipovitelina e fosfovitelina (as subunidades polipeptídicas das proteínas vitelínicas) e utilizada na formação dos grânulos de vitelo (WALLACE, 1985).

Os últimos são grânulos elétron-densos, limitados por membrana resultantes da fusão de vesículas cobertas menores, que aparecem inicialmente no citoplasma periférico (YAMAMOTO, 1964; DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; ULRICH, 1969; BEGOVAC & WALLACE, 1988). Essas vesículas menores são decorrentes do sequestro de material na superfície oocitária, via micropinocitose (DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; ANDERSON, 1968; ULRICH, 1969; BEGOVAC & WALLACE, 1988). Os grânulos de vitelo migram centriptamente, ocupam todo o citoplasma (NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989) e, conseqüentemente, deslocam os alvéolos corticais para o espaço perivitelínico (BEGOVAC & WALLACE, 1988). Esses grânulos podem manter sua integridade durante todo o crescimento oocitário, ou podem fundir-se em uma massa contínua, o que ocorre principalmente nos oócitos maduros das espécies marinhas (WEST, 1990).

A formação do vitelo nos teleósteos é tida como heterossintética (exógena) (DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER,

1996). No entanto, uma contribuição autossintética (endógena) tem sido considerada (ANDERSON, 1968; NAGAHAMA, 1983).

O comportamento das organelas citoplasmáticas nesse estágio de maturação, tem sido pouco observado. As descrições existentes apontam a presença de grande quantidade de mitocôndrias, às vezes contendo grânulos densos, retículo endoplasmático granular disperso no citoplasma e complexo de Golgi (DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968). Sugere-se a participação desse último na formação dos grânulos de vitelo (ANDERSON, 1968).

O núcleo dos oócitos em vitelogênese torna-se menos volumoso em relação ao citoplasma total e de formato irregular (YAMAMOTO, 1964). Pode estar localizado na região central do oócito e conter nucléolos periféricos (LOPES *et al.*, 1987), ou pode estar migrando para o polo animal, e portanto, ser excêntrico e conter nucléolos pequenos e irregulares, sendo alguns vacuolizados (RIZZO & BAZZOLI, 1993).

Nesse estágio, a zona radiata sofre um espessamento considerável, devido a um novo alongamento das microvilosidades e à deposição de substância amorfa (YAMAMOTO, 1964; ANDERSON, 1967; LAALE, 1980; ABRAHAM *et al.*, 1984; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989). No final da vitelogênese está completamente formada (ANDERSON, 1967).

As células foliculares aumentam em número, tornam-se cilíndricas ou cúbicas (LOPES *et al.*, 1987), e apresentam sistema de endomembranas desenvolvido, muitos ribossomos livres, e inúmeras mitocôndrias (WOURMS,

1976; BEGOVAC & WALLACE, 1988; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989).

O estágio final do CRESCIMENTO SECUNDÁRIO é denominado de oócito em maturação, e caracteriza-se pela retomada do processo meiótico (NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990). Nesses oócitos o núcleo migra para a periferia do oócito e o envoltório nuclear fragmenta-se; os cromossomos condensam e avançam para a metáfase da primeira meiose; segue-se a eliminação do primeiro corpúsculo polar, completando-se a primeira meiose; e por fim, os cromossomos remanescentes avançam para a metáfase da segunda meiose, onde permanecem (SELMAN & WALLACE, 1989).

Nos teleósteos, como em outros vertebrados, assim que os oócitos atingem a metáfase da segunda meiose, tornam-se maduros e prontos para a fertilização, podendo agora ser chamados de ovos (SELMAN & WALLACE, 1989).

Os ovários desses animais produzem uma série de hormônios esteróides (GURAYA, 1986). Nessa produção participam as células foliculares e as células esteroidogênicas propriamente ditas (KAGAWA *et al.*, 1982). As células esteroidogênicas estão presentes nas gônadas já nos estágios iniciais da diferenciação (NAKAMURA & NAGAHAMA, 1985, 1993; NAKAMURA *et al.*, 1993) e localizam-se entre as células da teca nos oócitos em desenvolvimento (NICHOLLS & MAPLE, 1972; NAKAMURA & NAGAHAMA, 1993).

As células produtoras de esteróides encontram-se agrupadas, próximas à vasos sangüíneos e apresentam inúmeras mitocôndrias com

cristas tubulares, retículo endoplasmático liso muito desenvolvido e ribossomos livres (NAKAMURA & NAGAHAMA, 1985, 1993; NAKAMURA *et al.*, 1993).

Oócitos não aptos a serem eliminados, devido a falhas no processo de desenvolvimento, entram em atresia. Os folículos atrésicos são estruturas compactas e bem vascularizadas. Neles, as células do epitélio folicular e possivelmente as da teca sofrem hipertrofia, invadem o oócito e absorvem seus componentes (NAGAHAMA, 1983; DE VLAMING, 1983; TYLER & SUMPTER, 1996).

Muito do que se conhece do desenvolvimento oocitário nos teleósteos, deve-se a trabalhos morfológicos. Estes têm contribuído para elucidar questões importantes sobre a biologia da reprodução desses animais. No entanto, as informações sobre o desenvolvimento das suas células germinativas femininas são oriundas de um número pequeno de espécies, considerando que vivem no ambiente aquático marinho e de água doce cerca de 20.000 espécies desses animais (TYLER & SUMPTER, 1996). Das cerca de 8.000 espécies neotropicais de água doce, 1.300 são Characiformes (VARI & MALABARBA, 1998).

Na América do Sul, espécies dessa ordem e, principalmente aquelas da família Characidae, sustentam as principais pescarias de águas continentais e apresentam táticas reprodutivas diversificadas (VAZZOLER & MENEZES, 1992).

Os Characidae da subfamília Serrasalminae constituem um grupo de

peixes piscívoros, não migradores, de período reprodutivo longo e coincidente com a estação chuvosa (RODRIGUES *et al.*, 1978; LEÃO *et al.*, 1991; VAZZOLER & MENEZES, 1992; FERREIRA *et al.*, 1996), que adaptam-se bem aos ambientes lênticos (MYERS, 1949) e são comuns nos reservatórios brasileiros (CARVALHO *et al.*, 1998). Compreendem os gêneros *Serrasalmus*, *Pygocentrus*, *Pristobrycon* e *Pygopristis* (MACHADO-ALLISON, 1983). Nesses gêneros as espécies mais agressivas são conhecidas como piranhas, e as menos agressivas como pirambebas (BRAGA, 1976).

As pirambebas dos reservatórios podem apresentar reprodução contínua, não sazonal e desenvolvimento oocitário assincrônico com desovas em múltiplas parcelas (LAMAS & GODINHO, 1996; FUJIHARA, 1997; TELES & GODINHO, 1997).

As peculiaridades da biologia reprodutiva desses animais o tornam um modelo biológico em potencial para os estudos sobre a morfofisiologia das gônadas.

Nesse sentido, e numa contribuição ao conhecimento dos mecanismos reprodutivos desses animais, estudou-se a cinética ultraestrutural do desenvolvimento oocitário da pirambeba, *S. spilopleura*.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

LOCAL DE CAPTURA E TRIAGEM DO MATERIAL

A captura dos espécimes de *S. spilopleura* foi realizada no reservatório de Jurumirim, Alto do Rio Paranapanema, SP (23°31'10"S–48°42'35"W).

O período de coletas estendeu-se de março de 1998 a fevereiro de 1999, com periodicidade mensal.

Os espécimes de pirambebas foram capturados com redes de espera simples, de diferentes malhas (de 1,5 a 7,0 cm entre nós adjacentes) e alturas (de 1,0 a 2,0 m), as quais permaneceram expostas sempre nos mesmos pontos de coleta, por cerca de 18 horas, sendo colocadas à tarde (14 horas), e recolhidas ao amanhecer (8 horas).

As gônadas foram obtidas dos peixes retirados com vida das redes, anestesiados e dissecados no campo, numa média de 5 exemplares por coleta.

MÉTODOS

Fixação Geral

Os ovários de *S. spilopleura* foram seccionados e fixados em solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% em tampão fosfato Sorensen 0,1 M, pH 7.3, onde permaneceram por no mínimo 24 horas.

Análise Ultraestrutural

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Os fragmentos de ovário assim fixados, foram submetidos ao protocolo descrito à seguir:

- Lavagem em tampão fosfato 0,1M, pH 7.3;
- Pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão, no escuro (2h);
- Lavagem em água destilada (3x de 5 min.);
- Contrastação em bloco com acetato de uranila 0,5% em solução aquosa (2h);
- Desidratação em série crescente de concentrações de acetona;
- Embebição em mistura 1:1 de resina (Araldite®) e acetona 100% (12h);
- Embebição em resina na estufa à 37°C (1h);
- Inclusão em resina e polimerização em estufa à 60°C (72h).

Conforme os procedimentos de rotina no processamento de material para Microscopia Eletrônica de Transmissão, foram feitos cortes semi-finos

(0,5 μm), que após depositados em lâminas histológicas foram corados com azul de metileno 1% e azur II 1% em solução de bórax 1%.

Dos blocos selecionados foram obtidos cortes ultra-finos com aproximadamente 500 Å de espessura (cortes prateados), em ultramicrotomo Ultratome III do LKB, equipado com navalha de diamante. Os cortes foram distendidos em vapor de xilol, coletados em telas de cobre, sem filme suporte, e contrastados. A contrastação foi feita primeiramente em acetato de uranila, preparado como solução saturada em álcool 50%, por 20 minutos, no escuro. Após lavagem por várias vezes em álcool 50%, o material sofreu nova contrastação em citrato de chumbo, por 10 minutos, seguida de lavagem por várias vezes, em água destilada.

Os cortes assim preparados foram observados em microscópio eletrônico de transmissão Philips-EM 301, e fotografados em filme 35mm Kodak (Eastman 5302). As cópias fotográficas foram feitas em papel fotográfico Kodak (Kodabrome RC Print).

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

O material pós-fixado foi cortado em fatias de 2 a 3 mm de espessura com auxílio de uma lâmina de barbear. Os fragmentos do tecido foram lavados em tampão, desidratados em série etanólica crescente, secos em bomba de ponto crítico (Balzers-CPDO20), montados em suporte porta-amostra e recobertos com ouro (metalizador Balzers – MEDO10). Os fragmentos de ovário assim preparados foram observados e fotografados em MEV (SEM 515).

OBS: As metodologias acima descritas referem-se àquelas da rotina de trabalho do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu.

MICROSCOPIA FOTÔNICA

Os fragmentos de ovário, previamente fixados, destinados à microscopia fotônica foram processados para inclusão em historesina (Jung) e cortados em micrótomo equipado com navalha de vidro. As secções com 3 a 5 μm de espessura, após depositadas em lâminas histológicas, foram coradas pela Hematoxilina/Eosina. A documentação foi realizada em fotomicroscópio Axiophoto (Zeiss).

Resultados

A análise ultraestrutural da cinética da oogênese e do desenvolvimento oocitário, compreendendo o crescimento primário e secundário dos oócitos de *Serrasalmus spilopleura*, permitiu a caracterização morfológica das células germinativas femininas, conforme descrito a seguir.

1 OOGÊNESE

Essa fase do desenvolvimento oocitário compreende a transformação das oogônias, originadas de células primordiais, em oócitos primários iniciais.

1.1 OOGÔNIAS (Figs. 1, 3, 4 A 7)

São células pequenas, com citoplasma escasso e finamente granular, contendo mitocôndrias arredondadas e alongadas, abundante complexo de Golgi, centríolos, retículo endoplasmático pouco desenvolvido, além de “nuages” e figuras mielínicas. Apresentam núcleo grande, normalmente com nucléolo único e envoltório nuclear com grande quantidade de poros.

Aparecem em ninhos, delimitados por duas ou mais células somáticas pré-foliculares. Em alguns ninhos, além das oogônias, encontram-se oócitos primários iniciais.

1.2 OÓCITOS PRIMÁRIOS INICIAIS (FIGS. 1, 2, 8 A 10)

Os oócitos primários iniciais também aparecem em ninhos, delimitado por duas ou mais células somáticas pré-foliculares.

São células ainda pequenas, de citoplasma escasso com granulações espessas, apresentando mitocôndrias arredondadas e alongadas, abundante complexo de Golgi, retículo endoplasmático pouco desenvolvido, além de “nuages” e figuras mielínicas. As organelas, em geral agrupadas, dispõem-se nas proximidades do envoltório nuclear, o qual apresenta grande quantidade de poros. No núcleo, na dependência da etapa da prófase I em que se encontram, pode-se observar nucléolo (FIG. 2) e complexos sinaptonêmicos em formação ou completos. A presença de complexos sinaptonêmicos permite o reconhecimento e a diferenciação desse tipo celular.

2 CRESCIMENTO PRIMÁRIO

Nessa fase, o oócito primário inicial deixa o ninho e entra em crescimento dando origem ao oócito pré-vitelogêncio. As células pré-foliculares, que acompanham o oócito, por sua vez proliferam dando origem às células foliculares. O envoltório folicular e o oócito pré-vitelogênico passam a formar o folículo, unidade de desenvolvimento oocitário.

2.1 OÓCITOS PRÉ-VITELOGÊNICOS (FIGS. 11 A 37)

Os oócitos pré-vitelogênicos, são maiores do que os oócitos primários, crescendo progressivamente em tamanho. Seu citoplasma apresenta grande quantidade de ribossomos que se espalham de forma homogênea, complexo de Golgi, retículo endoplasmático e numerosas mitocôndrias. As últimas aparecem agrupadas próximas ao núcleo, e, em menor número, na região citoplasmática periférica, podendo ou não estar associadas a “nuages”. Geralmente, complexo de Golgi e retículo endoplasmático localizam-se próximos aos grupamentos mitocôndriais. Na região citoplasmática periférica de alguns oócitos pré-vitelogênicos, podem aparecer vesículas não elétron-densas, de tamanhos variados (FIG. 34).

Nesses oócitos, o núcleo é grande, centralizado, com envoltório nuclear contendo grande quantidade de poros. Apresenta múltiplos nucléolos, arredondados, e, em geral, muito próximos à face interna do envoltório nuclear. Na mesma região, ocasionalmente, ocorrem figuras mielínicas (FIG. 15). No citoplasma perinuclear, junto à face externa do envoltório nuclear, observam-se inúmeras granulações altamente elétron-densas (FIGS. 14, 15, 21, 22 E 37).

O envoltório folicular dos oócitos pré-vitelogênicos, é formado por uma camada de células epiteliais, as células foliculares, as quais por sua vez são envoltas por outra camada de células, a teca. O epitélio folicular

repousa sobre uma fina lâmina basal, a qual se espessa progressivamente; e, entre essa última e a teca podem ser observados feixes de fibras colágenas (FIGS. 23 A 25). As células foliculares e as células da teca possuem o mesmo padrão morfológico. Apresentam núcleo achatado e longos prolongamentos citoplasmáticos, que acompanham a superfície oocitária. Contém mitocôndrias grandes e arredondadas, retículo endoplasmático e complexo de Golgi desenvolvidos e inúmeras vesículas.

Alguns oócitos pré-vitelogênicos que contêm vesículas não elétrondensas, apresentam pequenas microvilosidades oriundas da membrana oocitária e das células foliculares, iniciando a formação da zona radiata (FIGS. 31, 33 E 34). Outros apresentam microvilosidades um pouco maiores e interdigitadas (FIGS. 16 A 18). Por fim, em outros oócitos ainda pré-vitelogênicos, observa-se a deposição de substância amorfa na região das microvilosidades, levando ao espessamento da zona radiata (FIGS. 23 A 26). No citoplasma próximo à membrana plasmática, ocorrem vários conjuntos de corpos multivesiculares em diferentes etapas de formação (FIGS. 26 E 27).

3 CRESCIMENTO SECUNDÁRIO

As próximas etapas do desenvolvimento levam a um novo e considerável aumento em tamanho dos oócitos. No citoplasma dessas células, formam-se estruturas vesiculares com diferentes funções: alvéolos corticais, que na fecundação promovem o endurecimento do envelope do

ovo e evitam a poliespermia, e os grânulos de vitelo, destinados à nutrição do embrião.

3.1 OÓCITOS COM ALVÉOLOS CORTICAIS EM FORMAÇÃO (FIGS. 38 A 48)

São células maiores do que as da fase anterior. Apresentam grande quantidade de ribossomos, mitocôndrias, complexo de Golgi e retículo endoplasmático granular por todo o citoplasma. Em alguns oócitos dessa fase, podem ser observadas vesículas elétron-densas, com conteúdo heterogêneo, espalhadas na região citoplasmática mais interna e próximas ao envoltório nuclear (FIGS. 45 A 48). Algumas parecem apresentar continuidade com porções do retículo endoplasmático, sugerindo que tais vesículas sejam dali originadas (FIG. 46). Na região citoplasmática periférica surgem vesículas de baixa elétron-densidade, com conteúdo filamentoso e denso, as quais são consideradas precursoras dos alvéolos corticais (FIGS. 38 E 42). Tais vesículas podem fundir-se umas às outras, e também parecem fundir-se às vesículas não elétron-densas, formando vesículas maiores. No final desse estágio, os precursores dos alvéolos corticais preenchem quase que totalmente o citoplasma oocitário.

O núcleo dos oócitos com alvéolos corticais em formação, possui nucléolos de tamanhos variados e apresenta-se irregular, com pequenas dobras no envoltório nuclear, o qual contém grande quantidade de poros (FIGS. 47 E 48).

A zona radiata aumenta em espessura com acúmulo de substância amorfa, e é altamente elétron-densa na camada interna junto ao oolema, e de baixa elétron-densidade na camada externa (FIGS. 38, 39 E 42).

As células foliculares continuam pavimentosas e mostram estruturas juncionais ao longo de suas membranas laterais. Apoiam-se na lâmina basal e estão envoltas pela teca, bastante vascularizada, cujas células mantém o mesmo padrão já descrito (FIGS. 40 E 41).

Alguns oócitos com alvéolos corticais em formação apresentaram entre as células da teca, células produtoras de esteróides, nas quais são observadas mitocôndrias grandes, com cristas tubulares, e retículo endoplasmático liso abundante (FIG. 40).

3.2 OÓCITOS EM VITELOGÊNESE (FIGS. 49 A 65)

O citoplasma desses oócitos mostra grande quantidade de mitocôndrias distribuídas por toda sua extensão, bem como outras organelas (complexo de Golgi, retículo endoplasmático, corpos multivesiculares). Porém, sua principal característica é ser preenchido por grande quantidade de vesículas. Aquelas da região periférica, as precursoras dos alvéolos corticais, são claras, e continuam a fusão iniciada no estágio anterior (FIG. 56). Apresentam membrana irregular, e conteúdo filiforme, em padrão que sugere a presença de proteoglicanos (FIGS. 57 A 58).

Uma grande quantidade de grânulos envoltos por membrana, de diferentes tamanhos e cujo conteúdo é altamente elétron-denso, aparecem mais internamente, próximos ao núcleo (FIGS. 59 A 61). São os chamados grânulos de vitelo. À estes fundem-se pequenas vesículas, cujo conteúdo também é elétron-denso, as vesículas de vitelo (FIGS. 57, 59 E 60). Tais grânulos preenchem progressivamente todo o citoplasma, e, no final da vitelogênese, deslocam os alvéolos corticais para a periferia do oócito.

Nesses oócitos, o núcleo é altamente irregular, o envoltório nuclear, com inúmeros poros, forma chanfraduras nas quais localizam-se os nucléolos. Esses últimos apresentam diferentes tamanhos, sendo alguns anelados (FIGS. 62 A 65).

A zona radiata (FIG. 49) encontra-se bem desenvolvida e apresenta canalículos por onde passam as microvilosidades (Figs. 50, 51, 54 E 55). Nela distinguem-se três camadas de substância amorfa progressivamente menos elétron-densa, conforme se distanciam da superfície oocitária. A camada externa, em contato com as células foliculares, é a de menor elétron-densidade. A interna, adjacente à membrana oocitária é a mais elétron-densa e também a mais espessa. A camada média, de elétron-densidade intermediária, aparentemente, resulta da intersecção das anteriores (FIG. 51).

Nesse estágio, as células foliculares são um pouco mais altas do que as da fase anterior, e mostram prolongamentos citoplasmáticos mais curtos, com alguns espaços intercelulares. Estes parecem estar

preenchidos por substância fracamente elétron-densa, semelhante à substância que ocorre nas vesículas endocíticas não elétron-densas (FIG. 52). As células foliculares permanecem ligadas entre si em pequenas extensões da membrana plasmática lateral. Seu citoplasma é preenchido por abundante retículo endoplasmático granular, complexo de Golgi, vesículas de conteúdo pouco elétron-denso e grande quantidade de mitocôndrias (FIGS. 52 E 53). As células da teca mantêm as mesmas características já descritas.

3.3 OÓCITO EM VITELOGÊNESE FINAL (FIGS. 66 A 78)

O citoplasma dos oócitos em vitelogênese final apresenta grande quantidade de mitocôndrias, “lamellae anulata”, bem como outras organelas (FIGS. 76 A 78). Os alvéolos corticais, ainda em formação, preenchem o citoplasma periférico para onde foram deslocados pelos grânulos de vitelo (FIG. 73). Na região mais interna do citoplasma, vesículas menores continuam se fundindo aos grânulos de vitelo (FIGS. 74, 75, 77 E 78).

A zona radiata obedece o mesmo padrão da fase anteriormente descrita, observando-se três camadas com diferentes elétron-densidades, presença de canalículos e microvilosidades (FIGS. 66, 71 E 72).

As células foliculares tornam-se cúbicas e apresentam núcleo central. Seu citoplasma apresenta mitocôndrias alongadas, abundante complexo de Golgi e retículo endoplasmático granular e muitas vesículas

de diferentes tamanhos e conteúdo (FIGS. 69 E 70). O espaço intercelular mantém-se, e a área de ligação entre as células torna-se maior (FIG. 68). Envolvendo o epitélio folicular, observam-se duas camadas celulares. A teca, cujas células permanecem alongadas, está envolta por um epitélio de células pavimentosas com longos prolongamentos citoplasmáticos. Feixes de fibras colágenas são observados entre essas duas camadas celulares (FIGS. 67 E 68).

CÉLULAS PRODUTORAS DE ESTERÓIDES E CÉLULAS INTERSTICIAIS (FIGS. 79 A 83)

Ocasionalmente pode-se observar, associados à vasos sanguíneos, grupamentos celulares com características morfológicas de células produtoras de esteróides (FIGS. 79 A 81).

As células produtoras de esteróides apresentam formato irregular, citoplasma contendo mitocôndrias grandes e arredondadas, com cristas tubulares, ao redor das quais encontra-se abundante retículo endoplasmático liso, além de ribossomos livres. Seu núcleo é excêntrico, contém nucléolo único centralizado, e cromatina condensada na região periférica (FIG. 80).

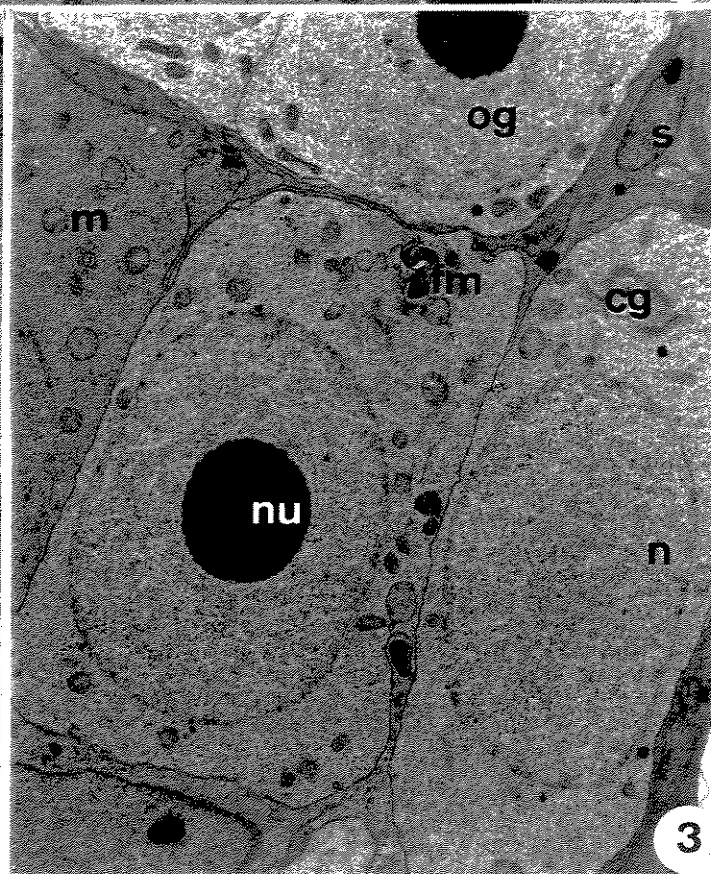
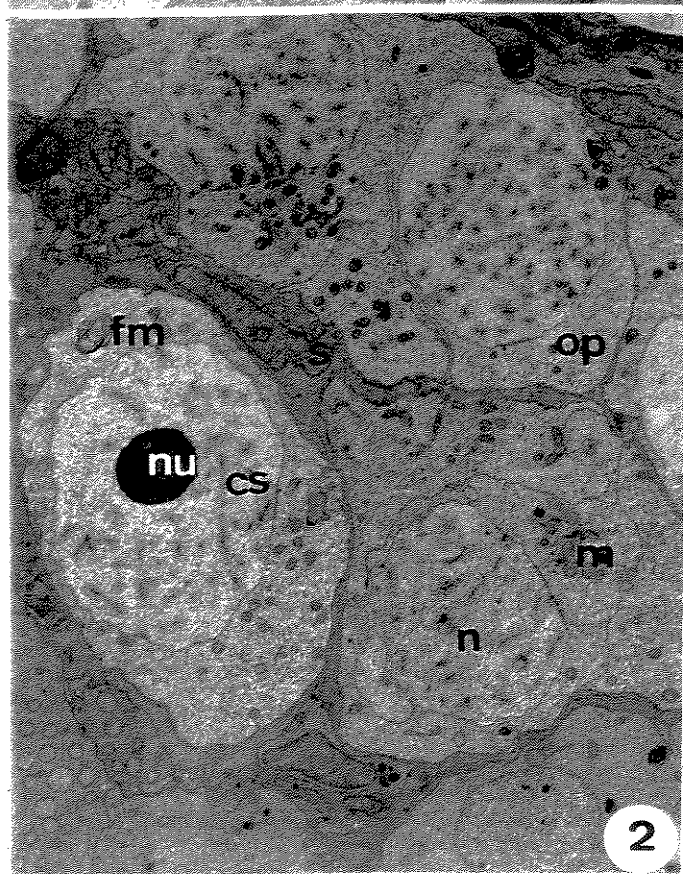
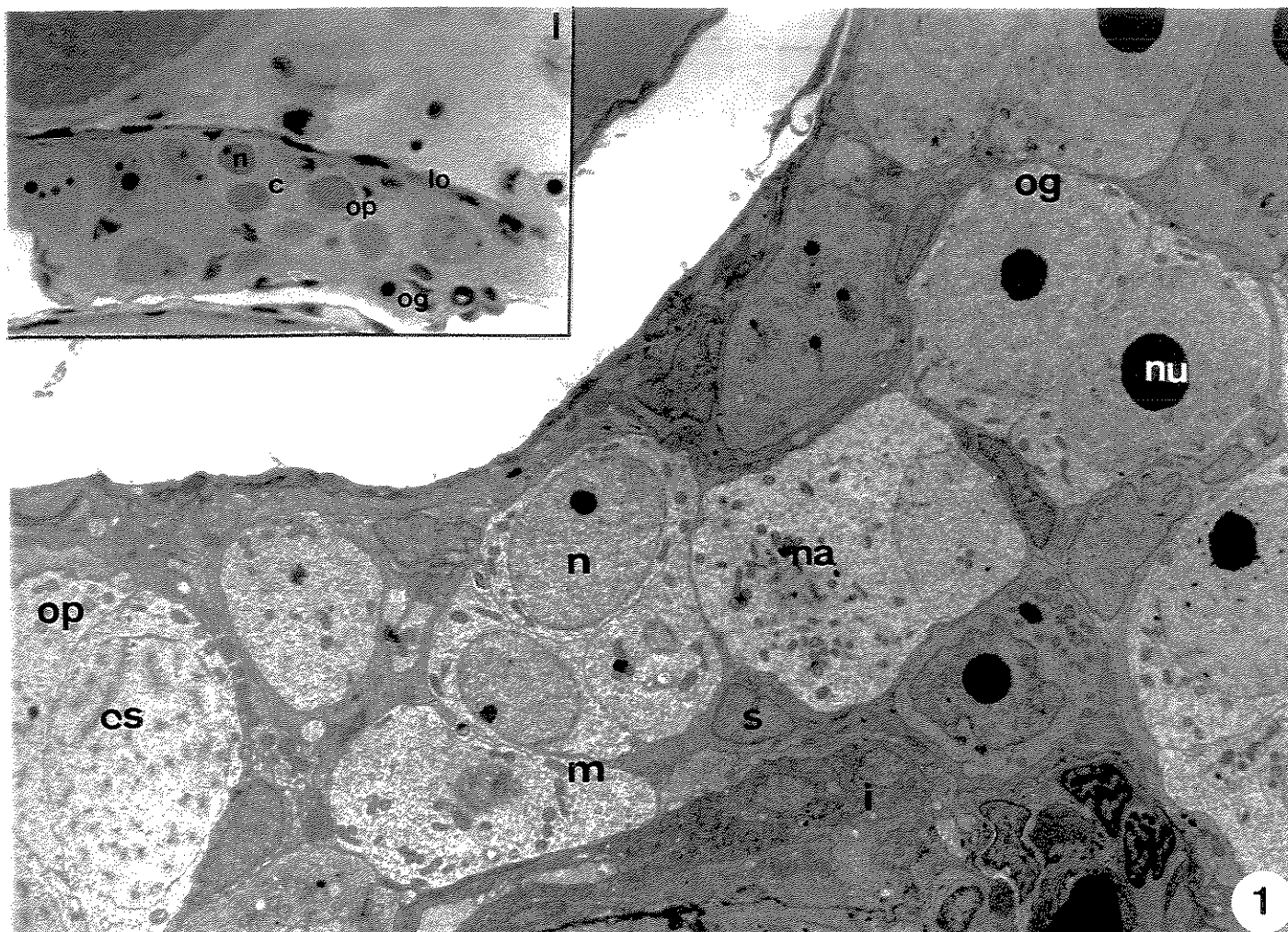
O tecido conjuntivo presente nas lamelas ovígeras apresenta fibroblastos, vasos e grande quantidade de fibras colágenas (FIGS. 82 E 83).

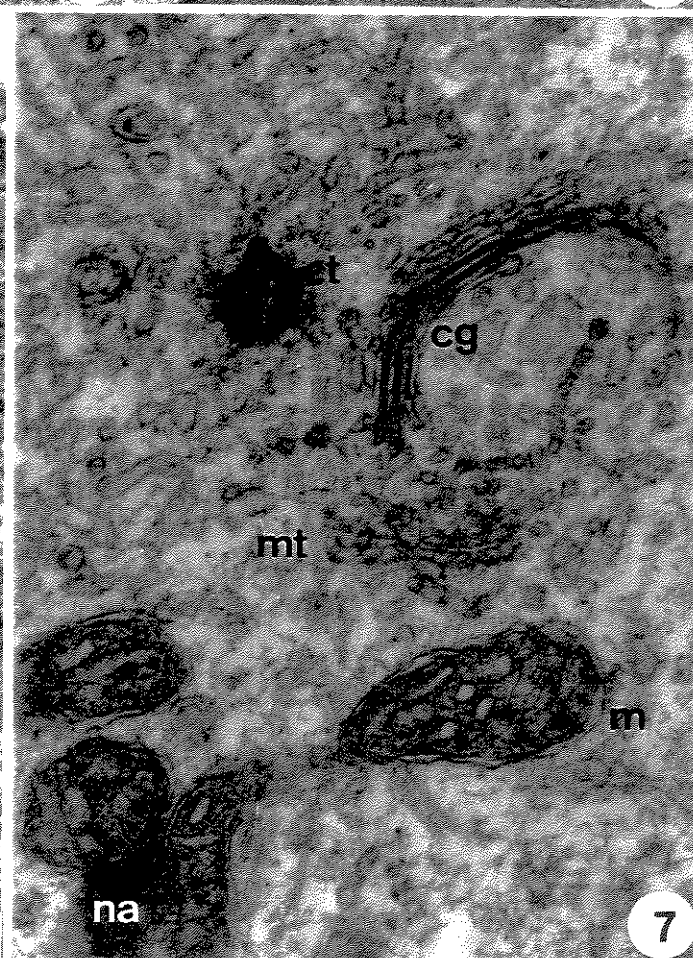
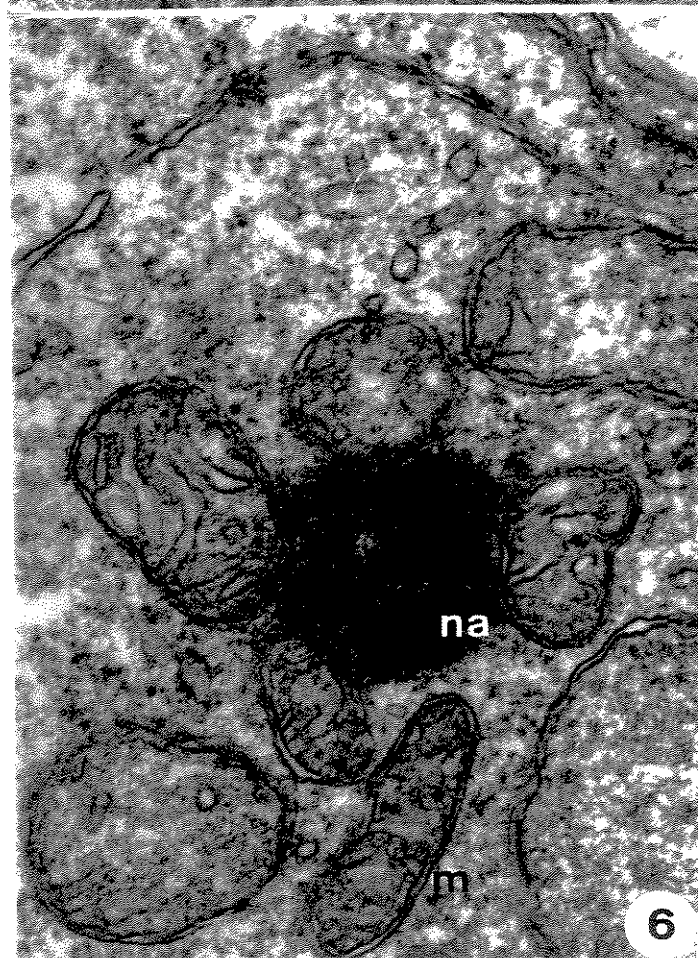
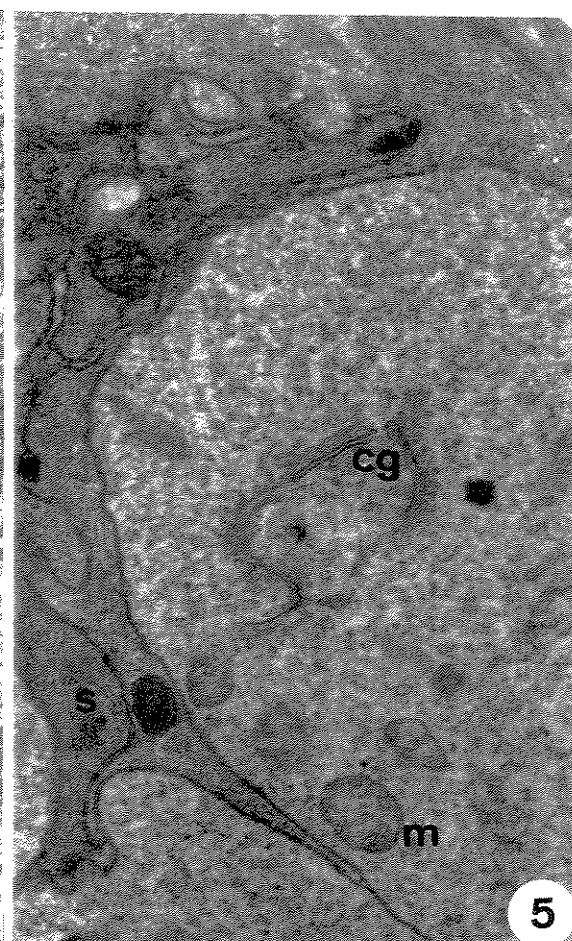
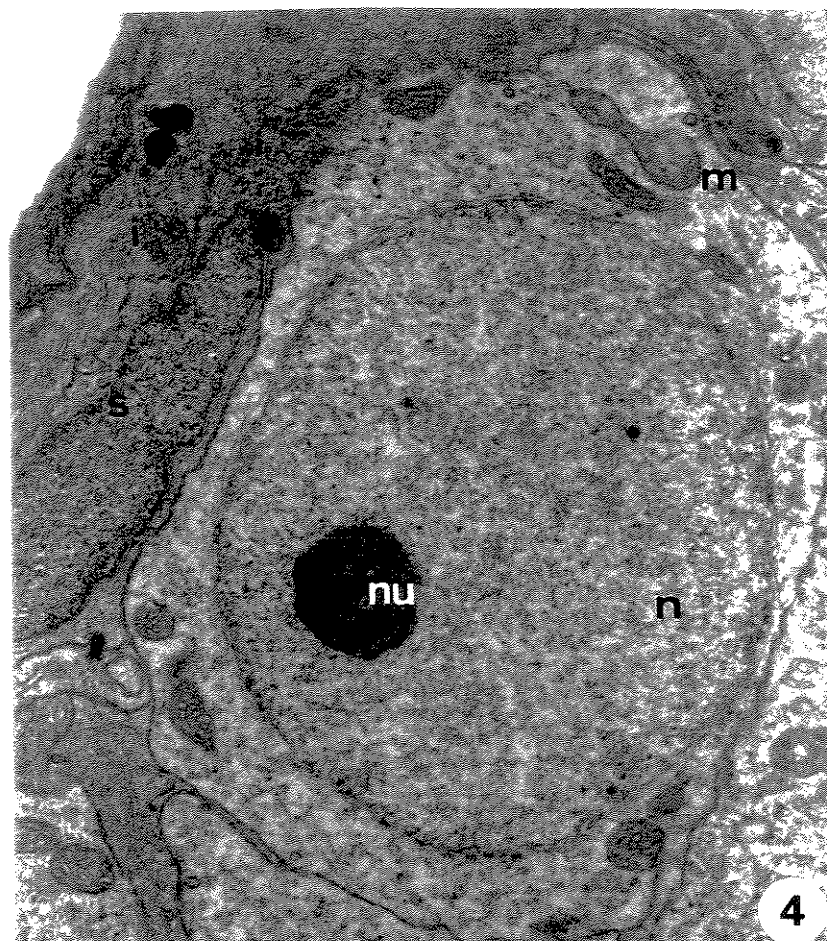
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (FIGS. 84 A 87)

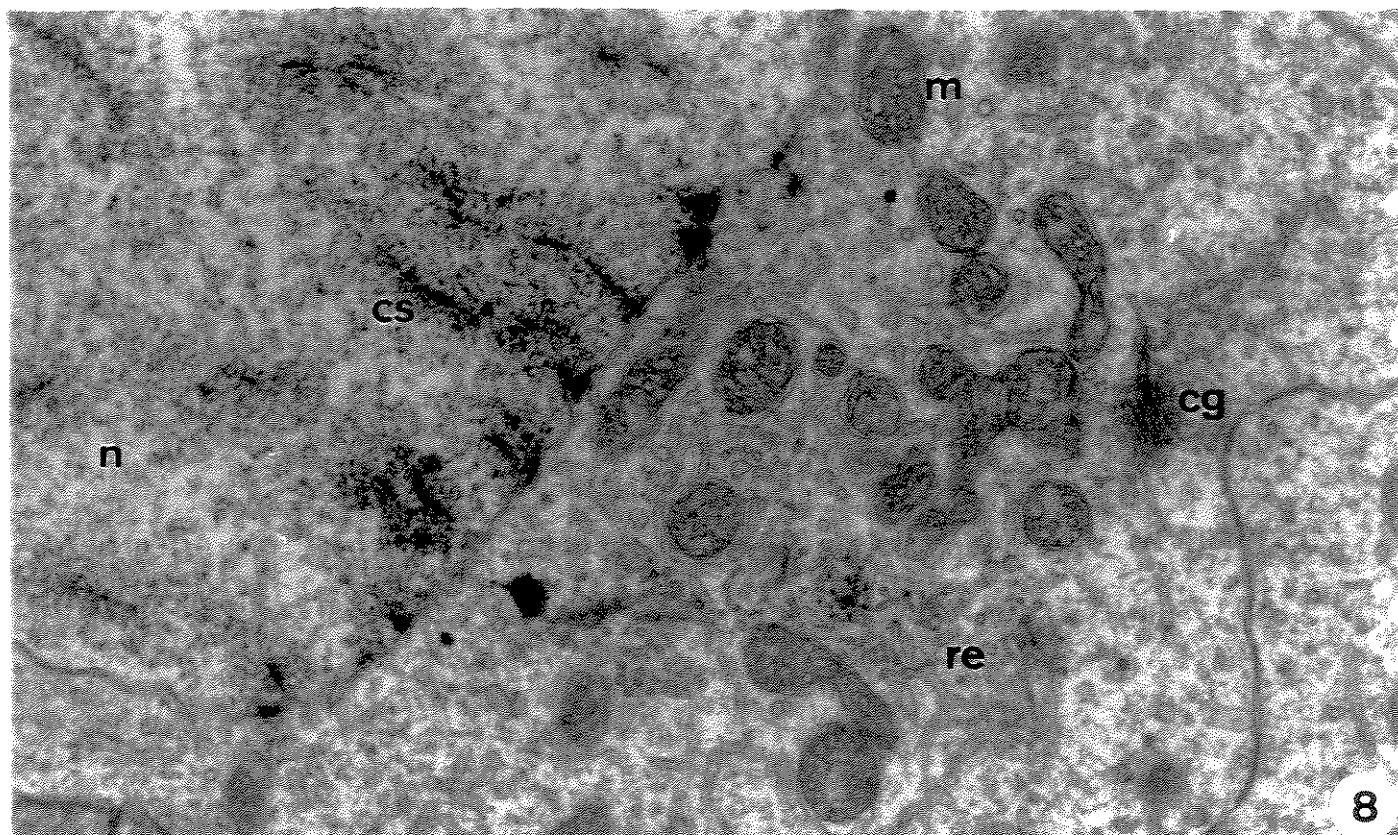
Ao microscópio eletrônico de varredura, os ovários de *S. spilopleura* apresentaram uma cápsula espessa, a túnica albugínea. Dobras de tecido conjuntivo projetam-se da cápsula para a cavidade ovariana, constituindo as lamelas ovígeras. Nestas, situam-se os folículos contendo oócitos em diferentes fases de desenvolvimento, permeados por vasos sanguíneos. (FIGS. 84 A 87).

Abreviaturas

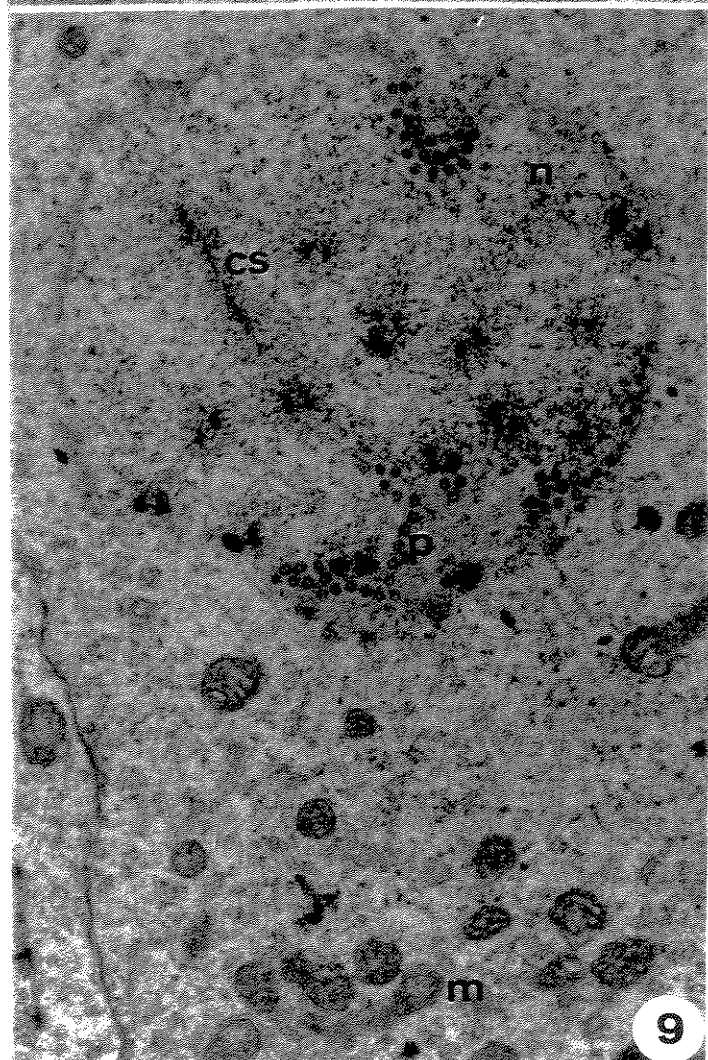
ac	alvéolo cortical	mt	microtúbulo
acp	precursor do alvéolo cortical	mv	microvilosidade
c	citoplasma	n	núcleo
cg	complexo de Golgi	na	“nuages”
cl	colágeno	nu	nucléolo
cm	corpos multivesiculares	nua	nucléolo anelado
cn	canalícuo	o	oócito
cpe	célula produtora de esteróides	og	oogônia
cs	complexo sinaptonêmico	op	oócito primário inicial
ct	centríolo	p	poros nucleares
ef	envoltório folicular	re	retículo endoplasmático
ei	espaço intercelular	rer	retículo endoplasmático granular
ep	epitélio pavimentoso	s	célula somática pré-folicular
en	envoltório nuclear	sa	substância amorfa
f	célula folicular	t	teca
fb	fibroblasto	ta	túnica albugínea
fm	figura mielínica	vc	vesícula clara
ge	granulações elétron-densas	vn	vesícula não elétron-densa
gv	grânulo de vitelo	vd	vesícula elétron-densa
h	hemácia	vs	vaso sanguíneo
i	interstício	vt	vesícula de vitelo
la	“lamellae anulata”	zr	zona radiata
lb	lâmina basal	zrl	camada externa da zr
lo	lamela ovígera	zrll	camada média da zr
m	mitocôndria	zrlll	camada interna da zr



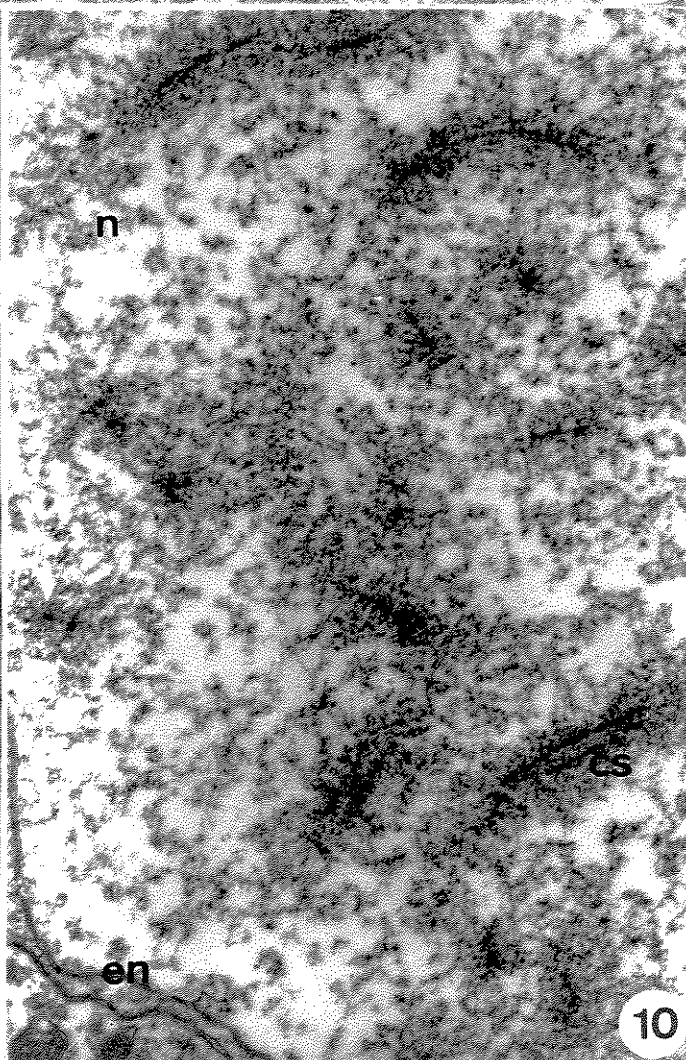




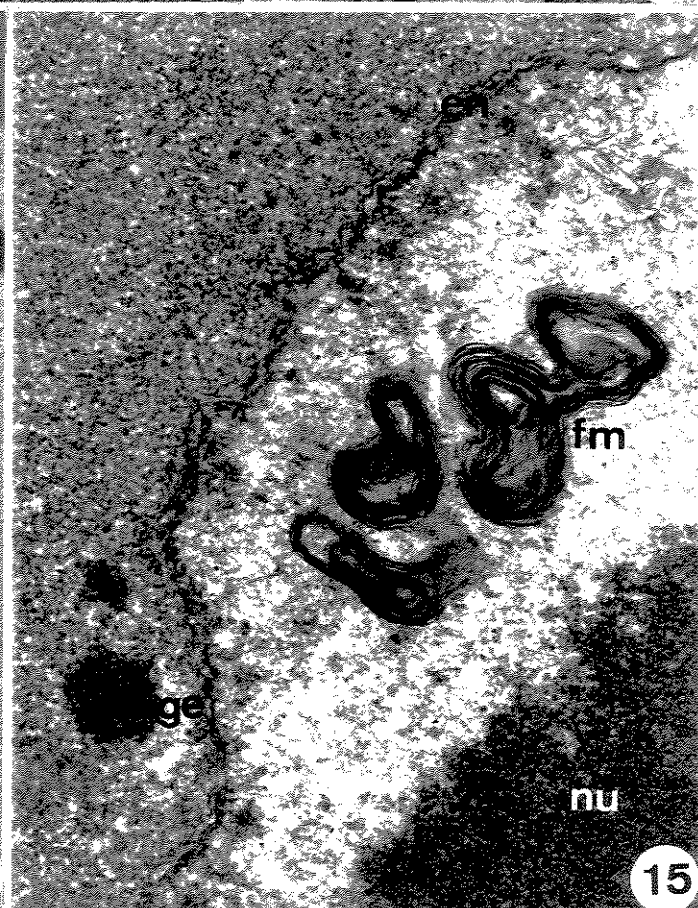
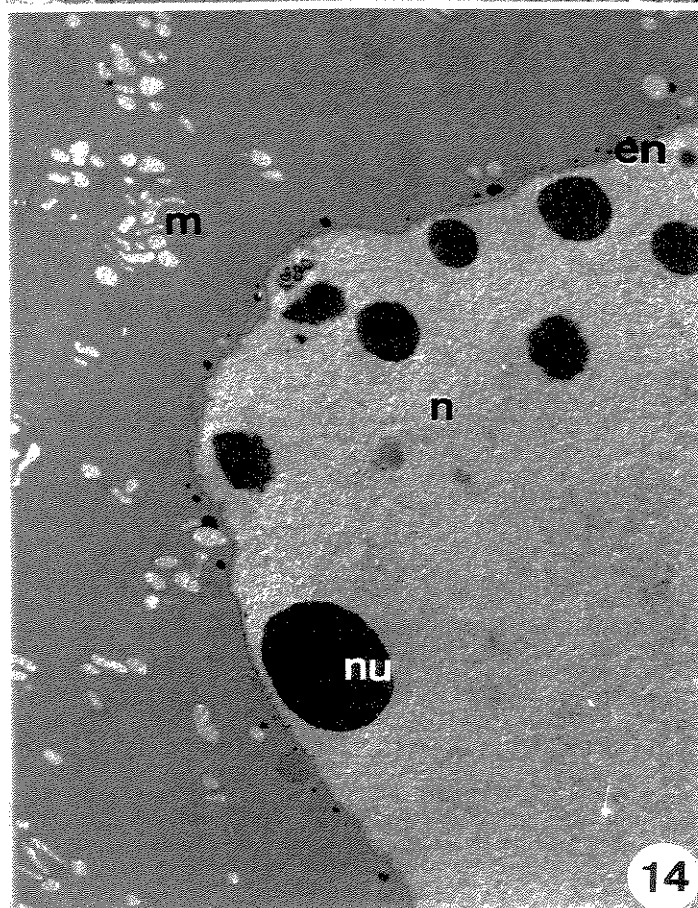
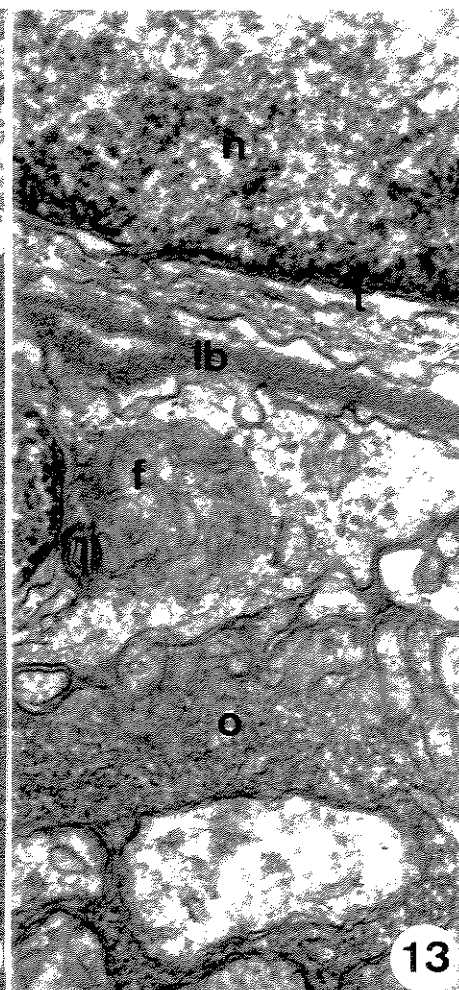
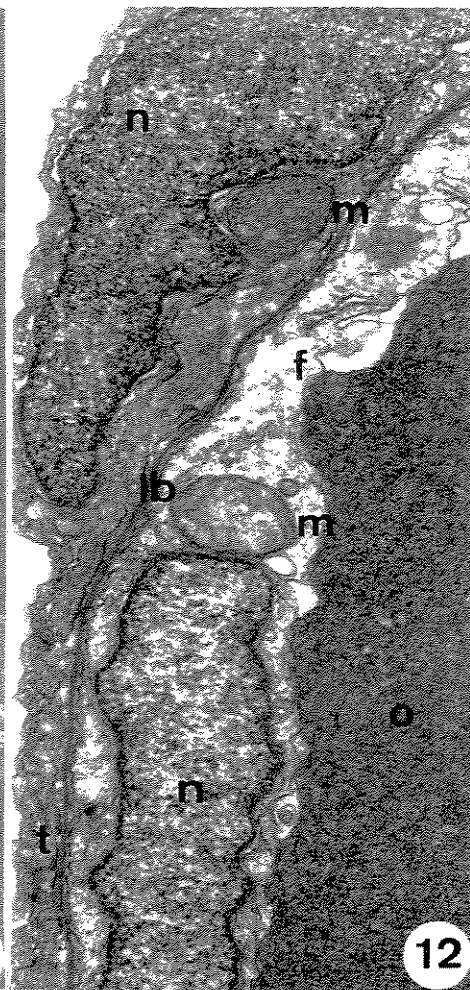
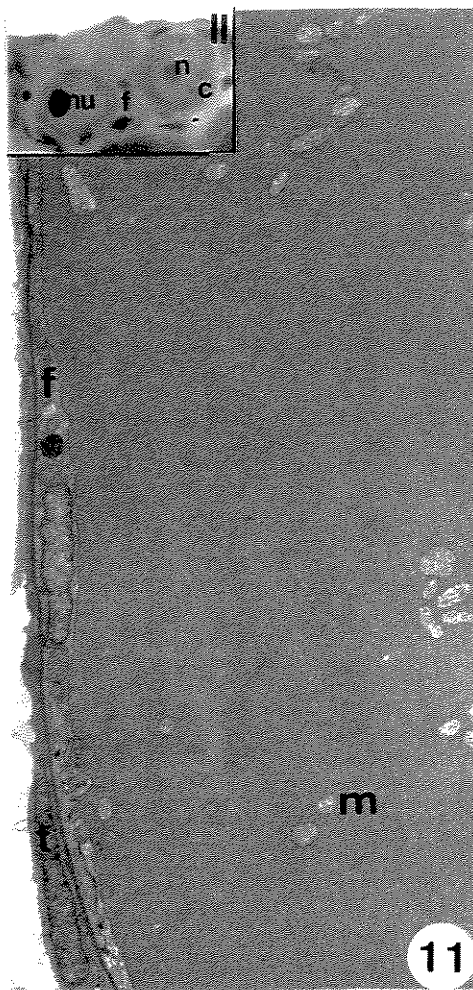
8

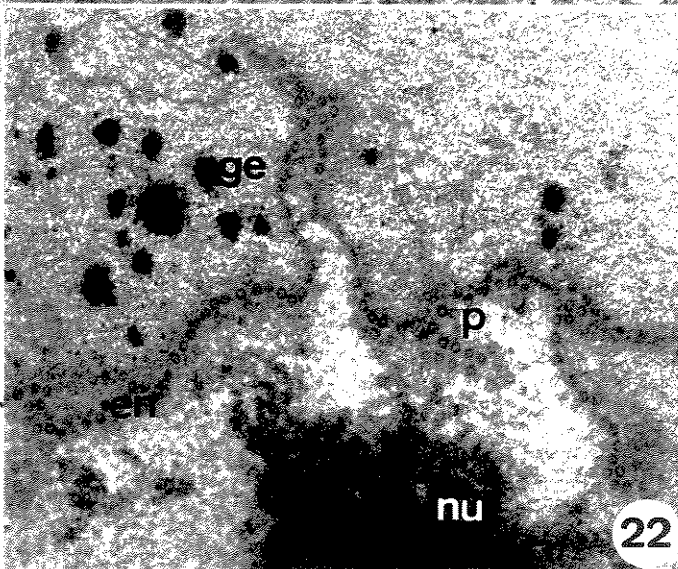
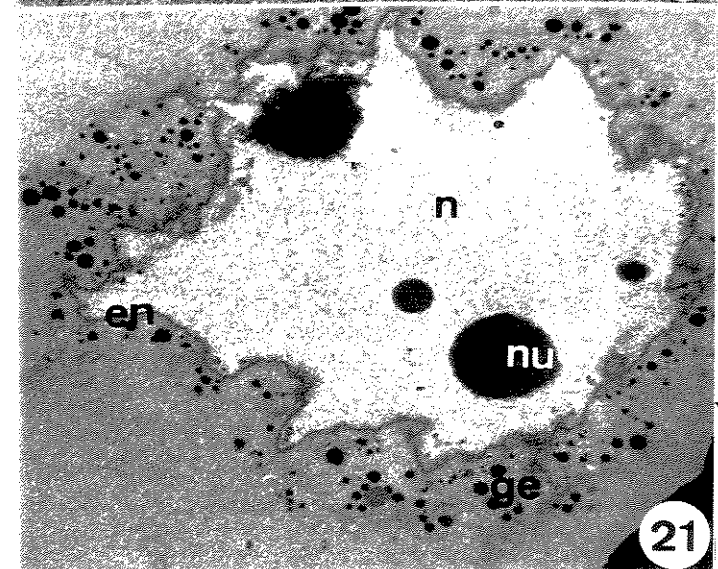
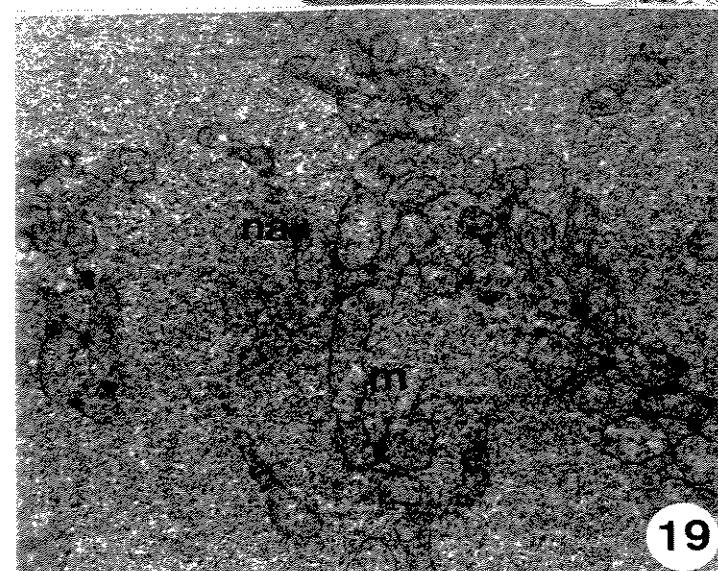
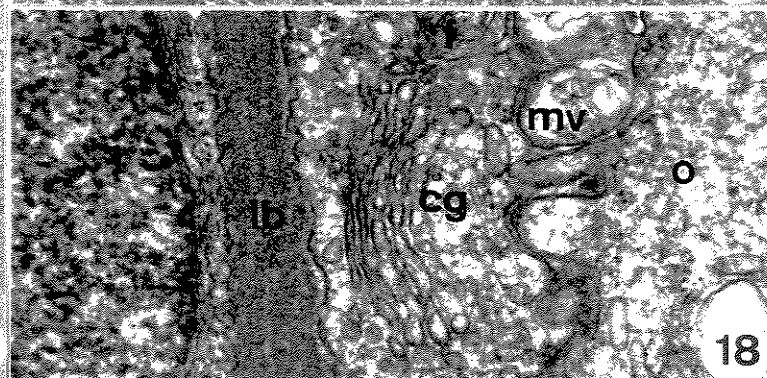
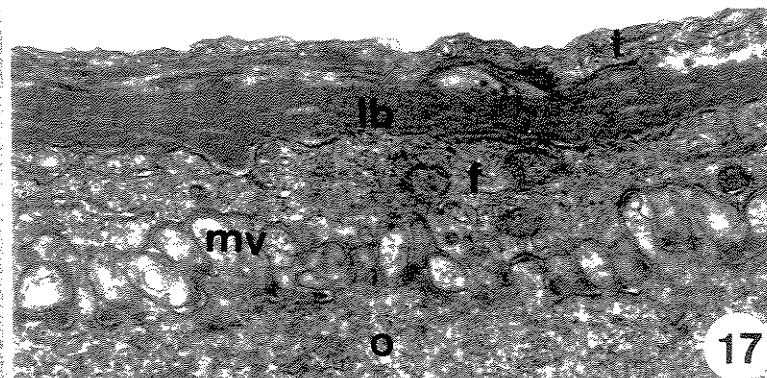
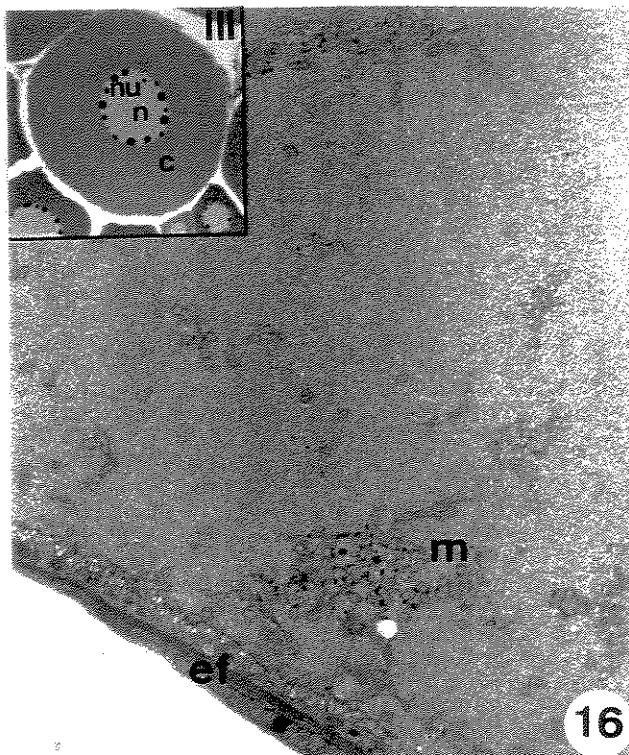


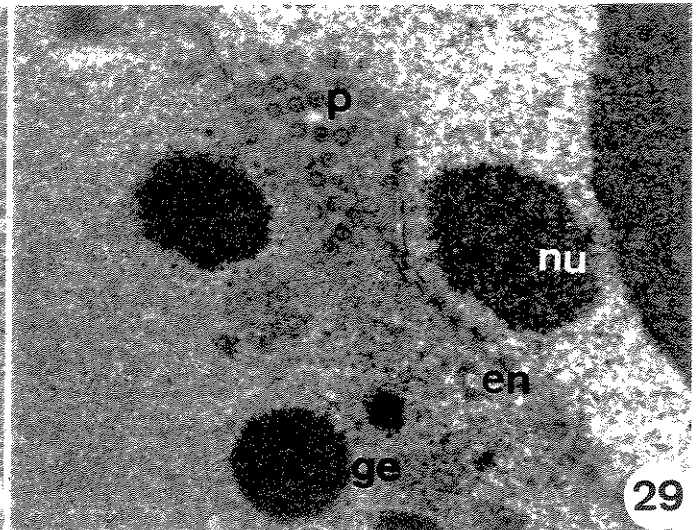
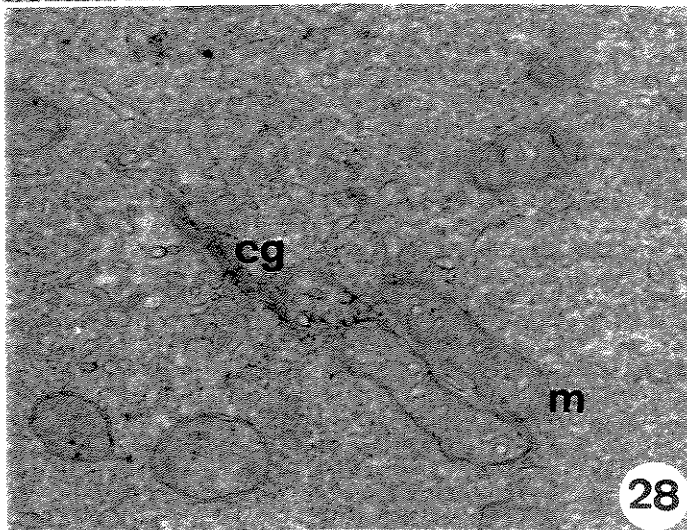
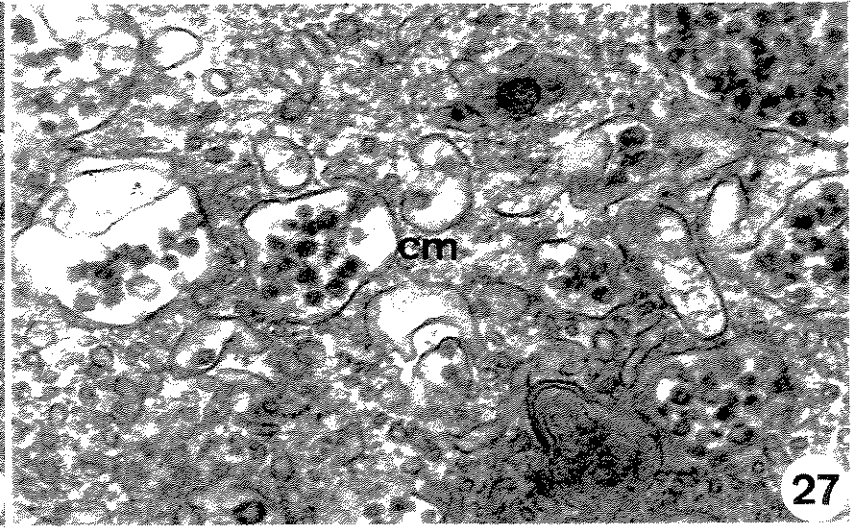
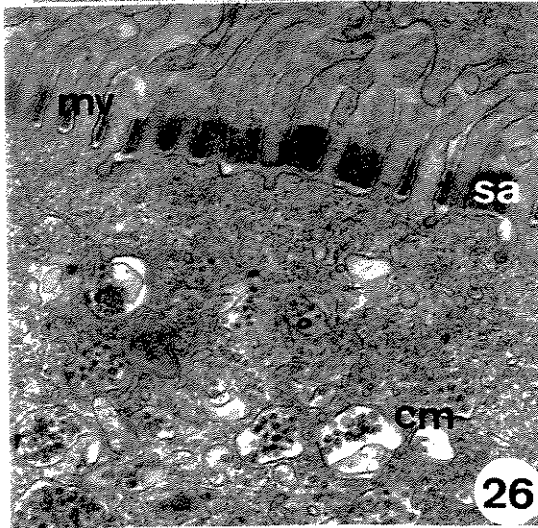
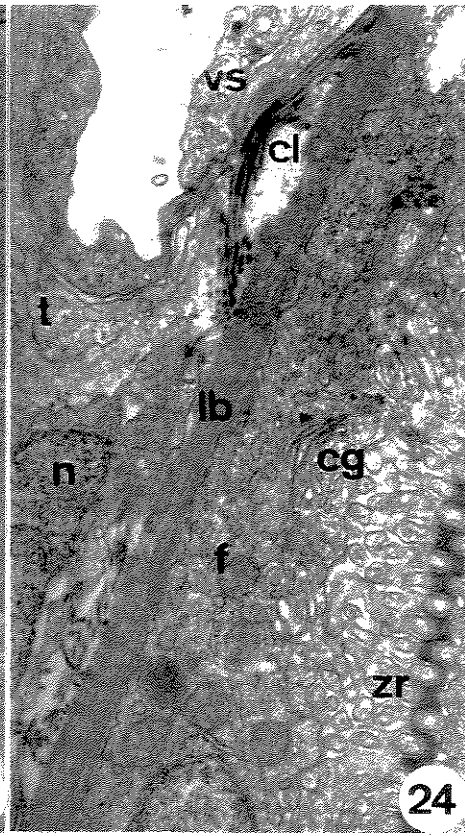
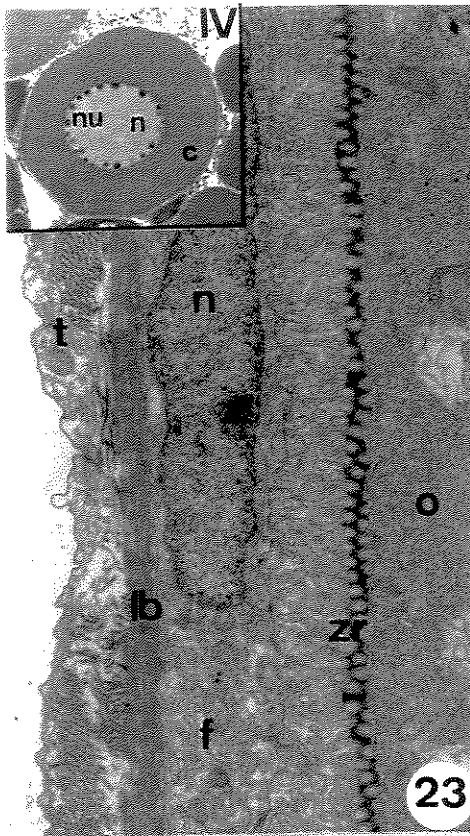
9

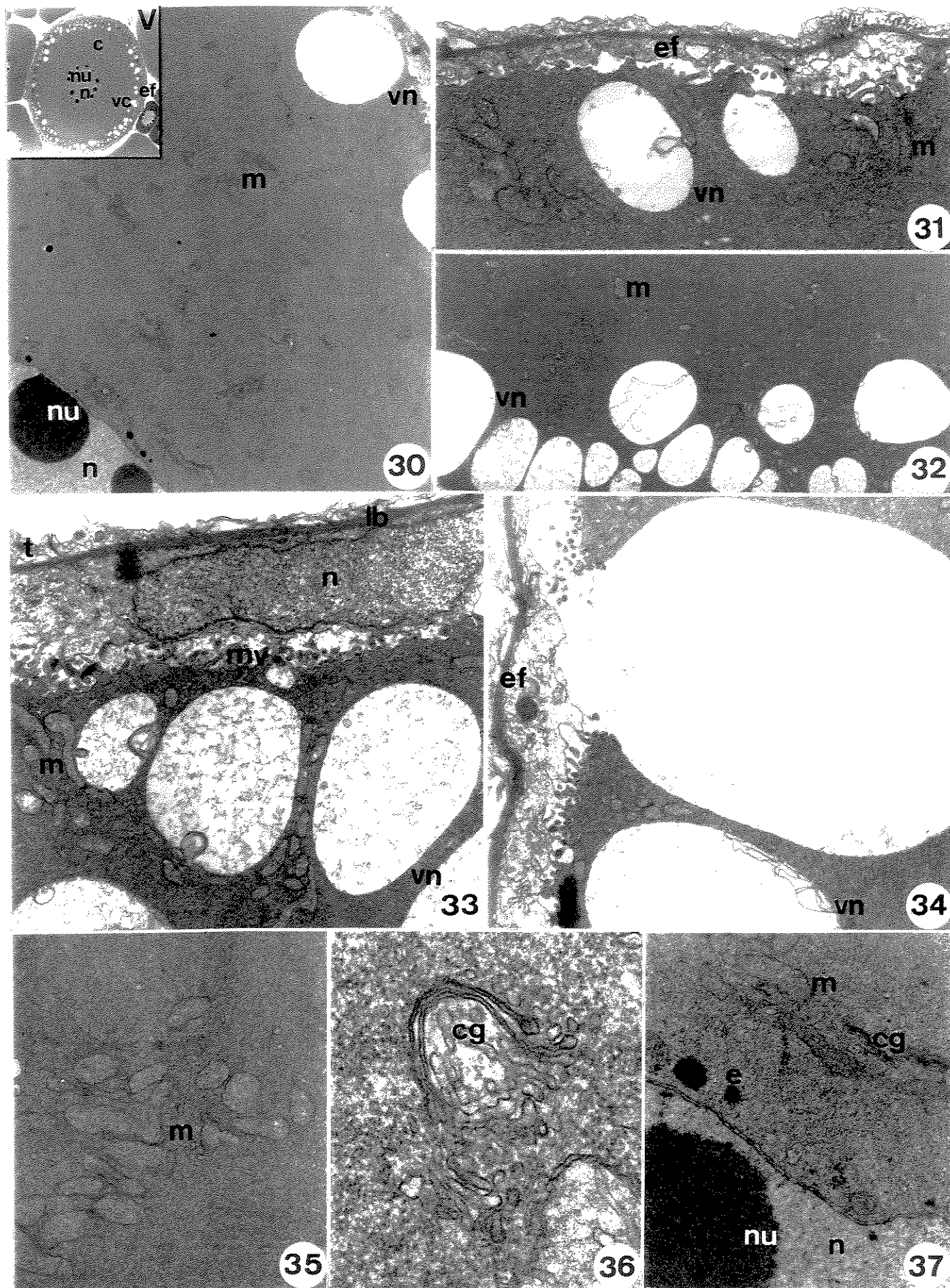


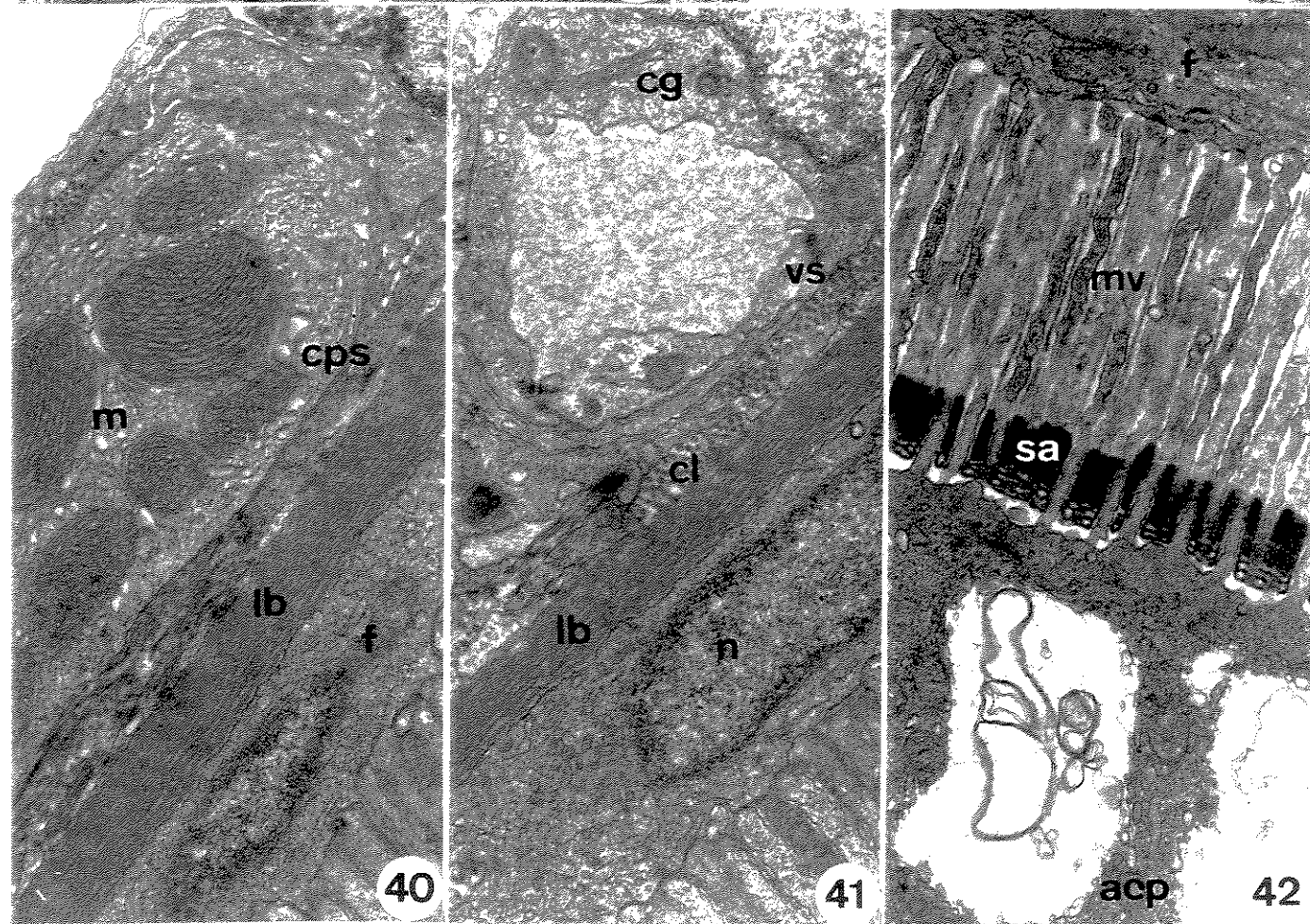
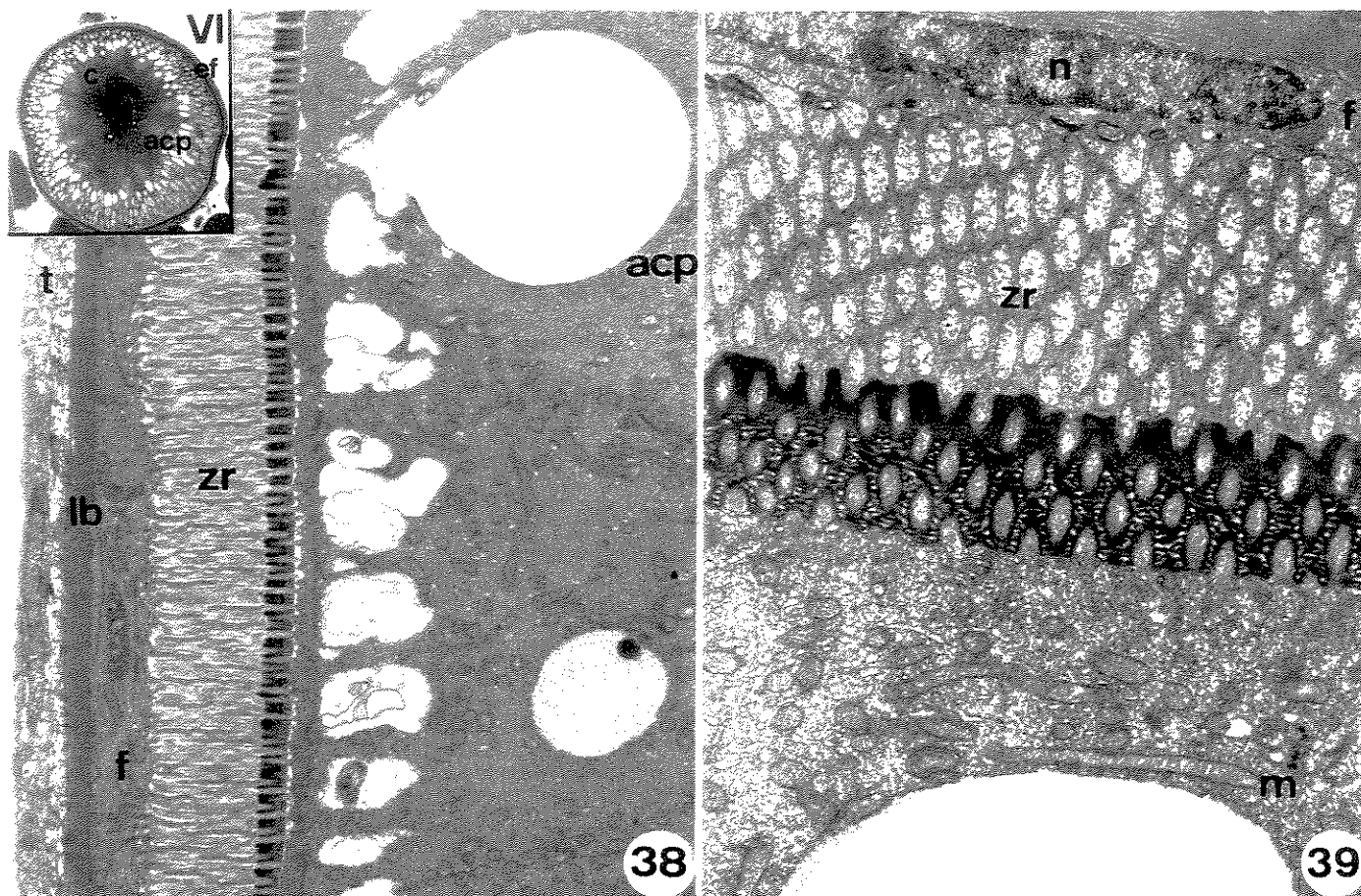
10

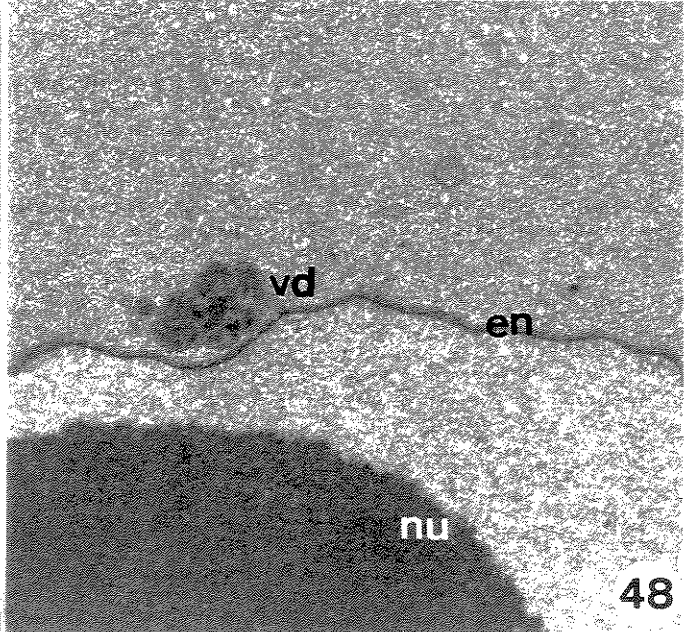
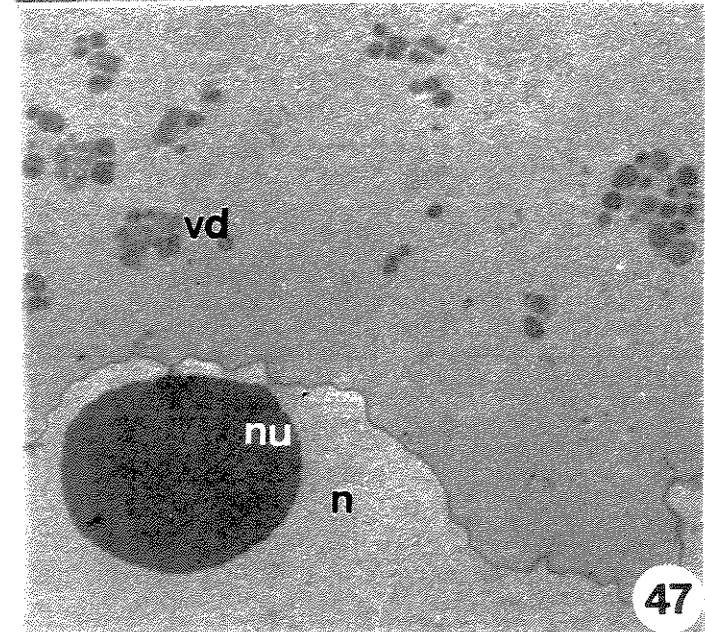
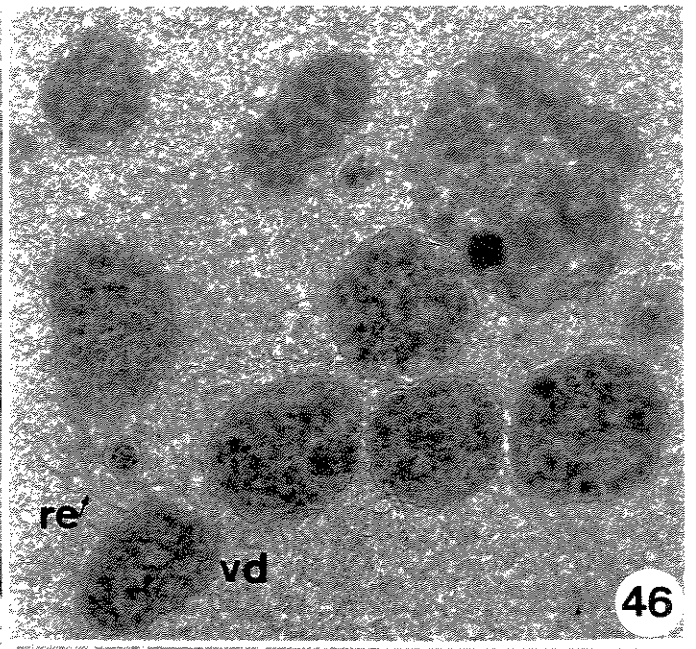
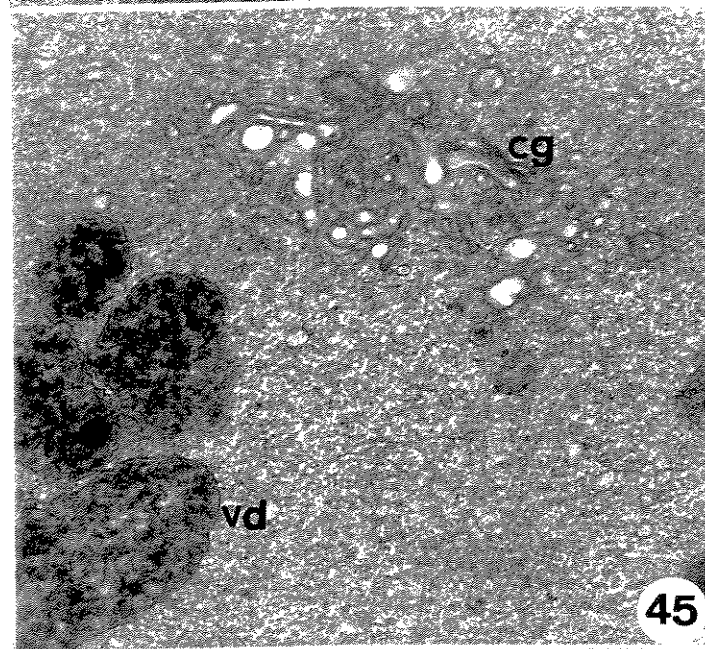
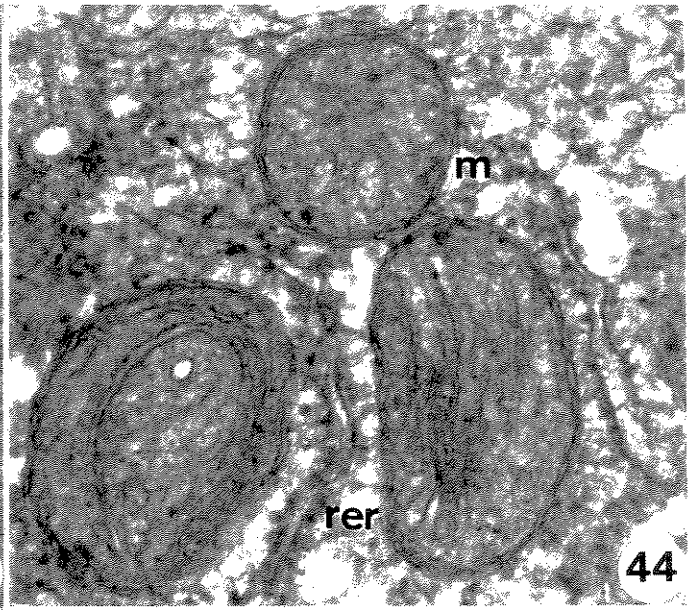
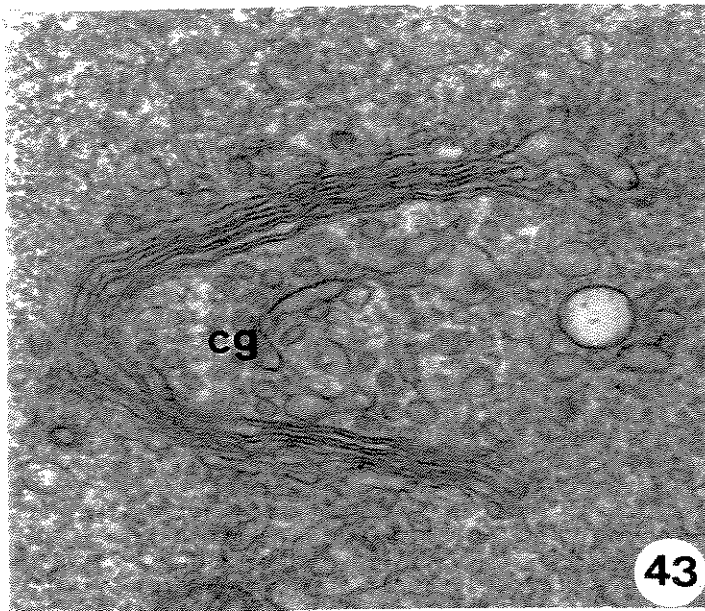


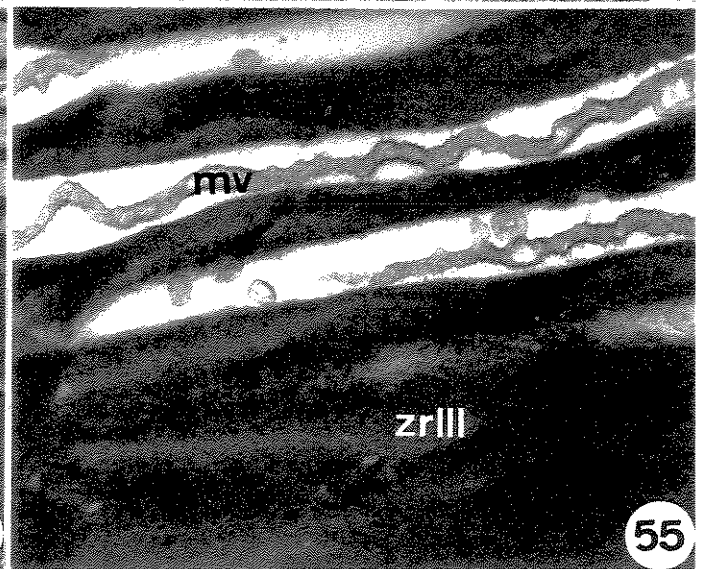
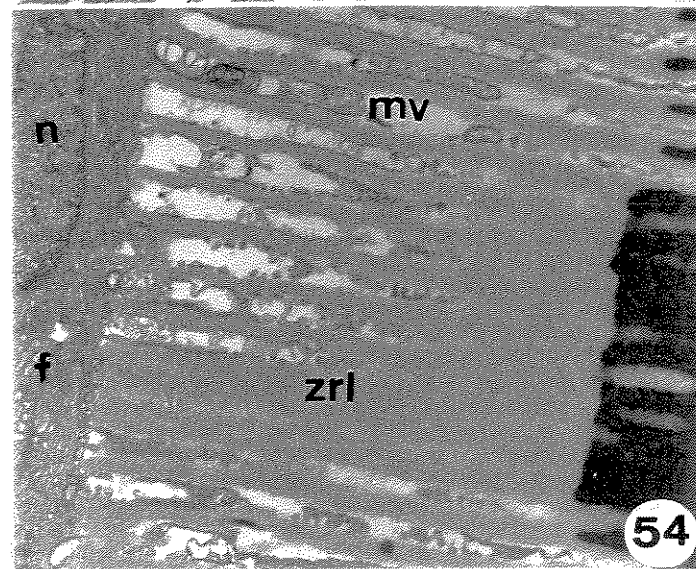
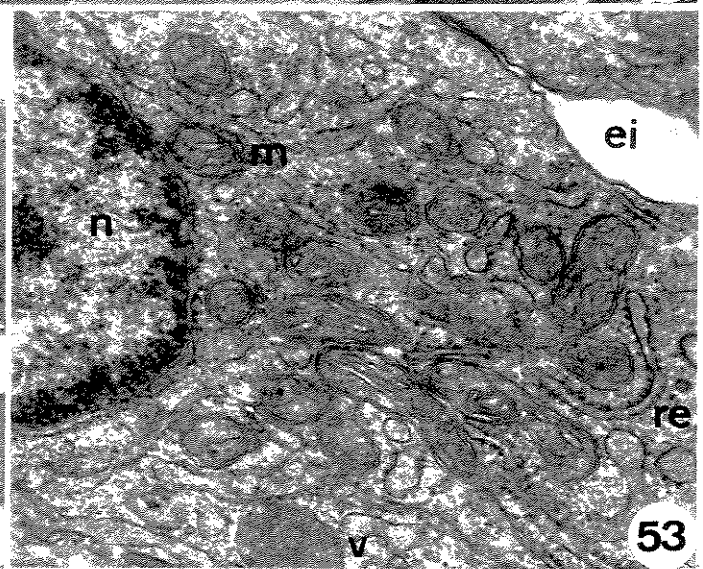
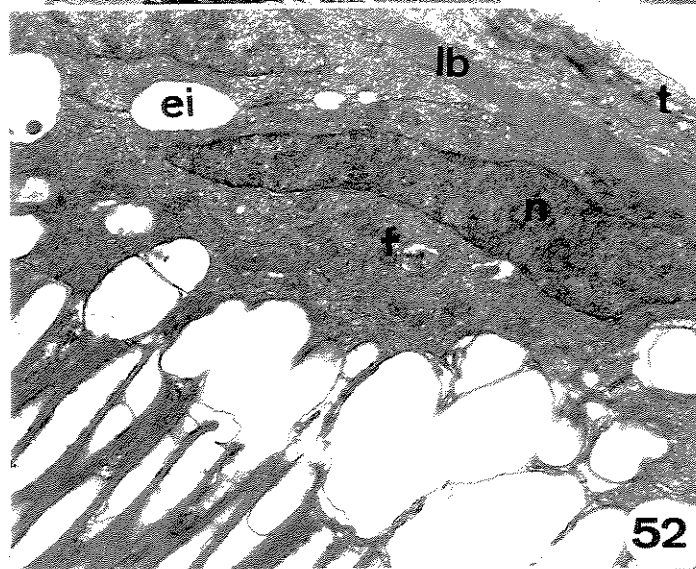
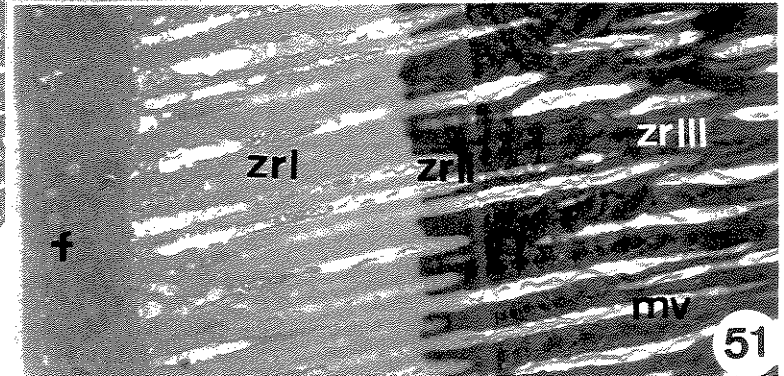
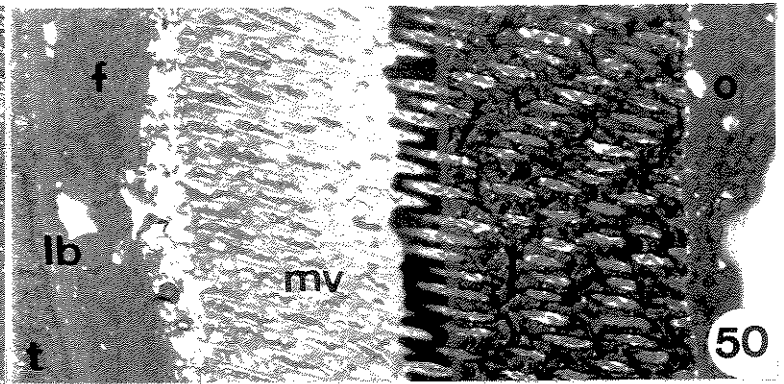
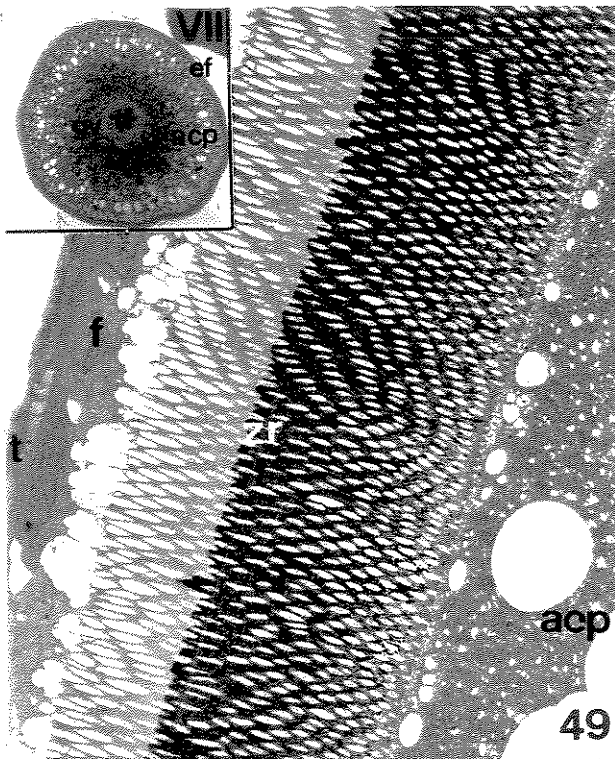


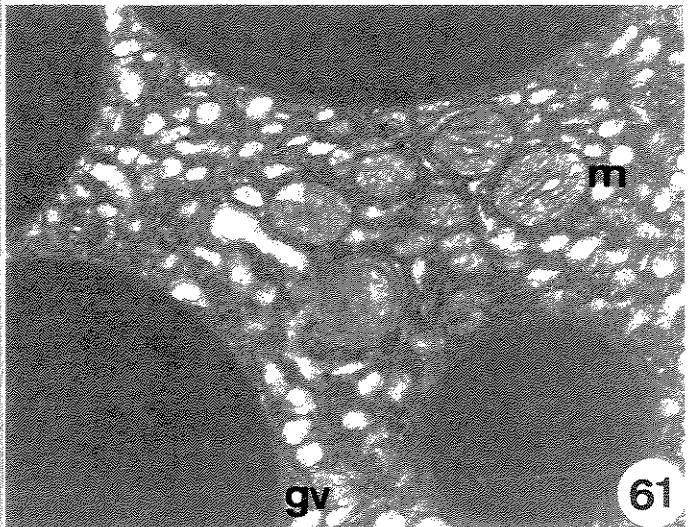
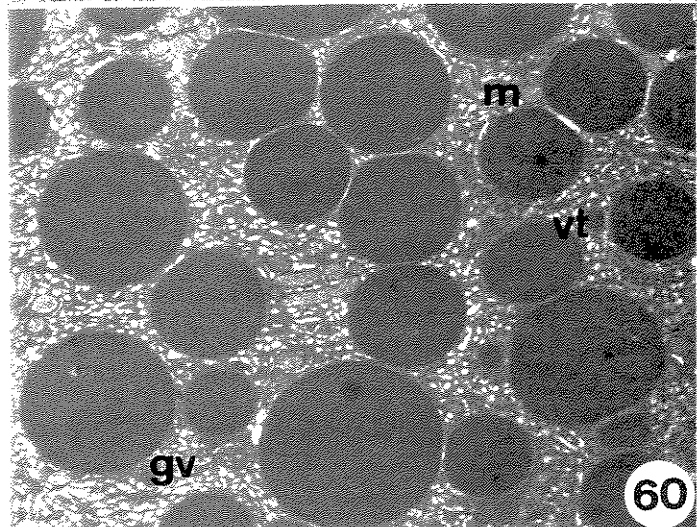
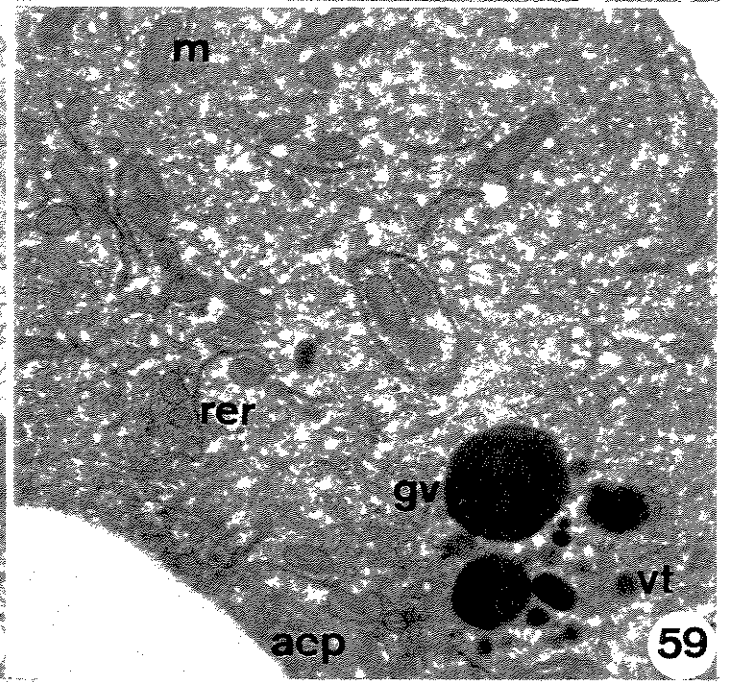
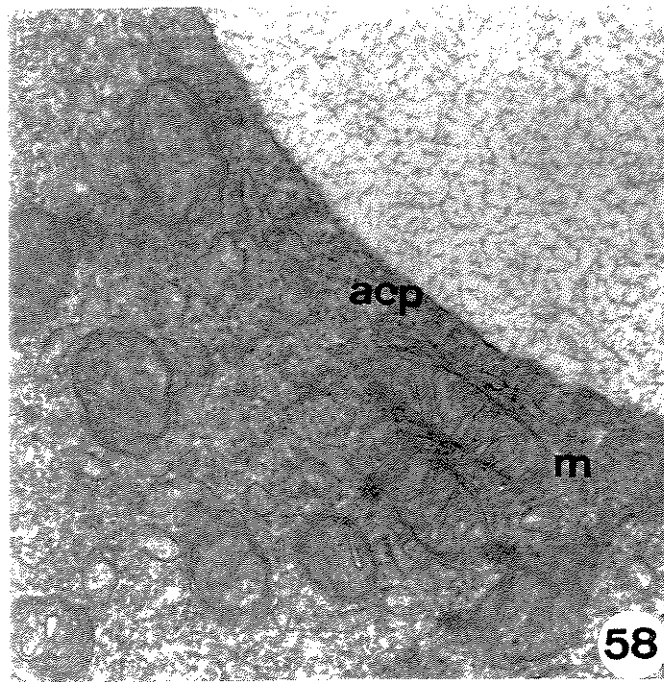
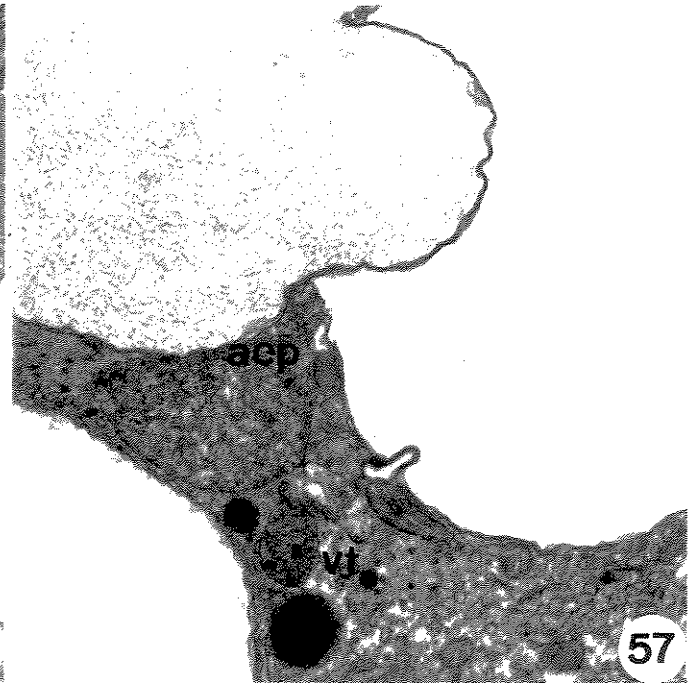
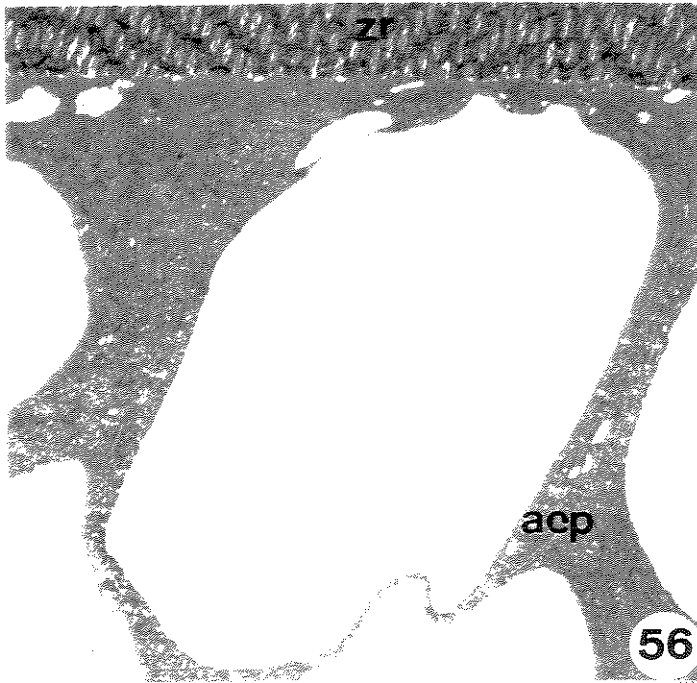


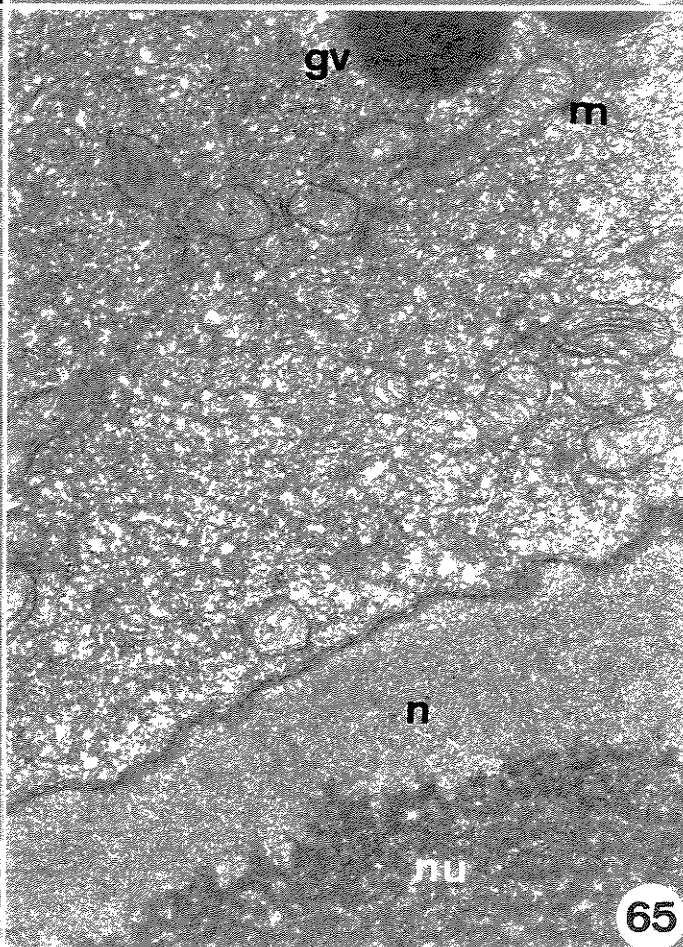
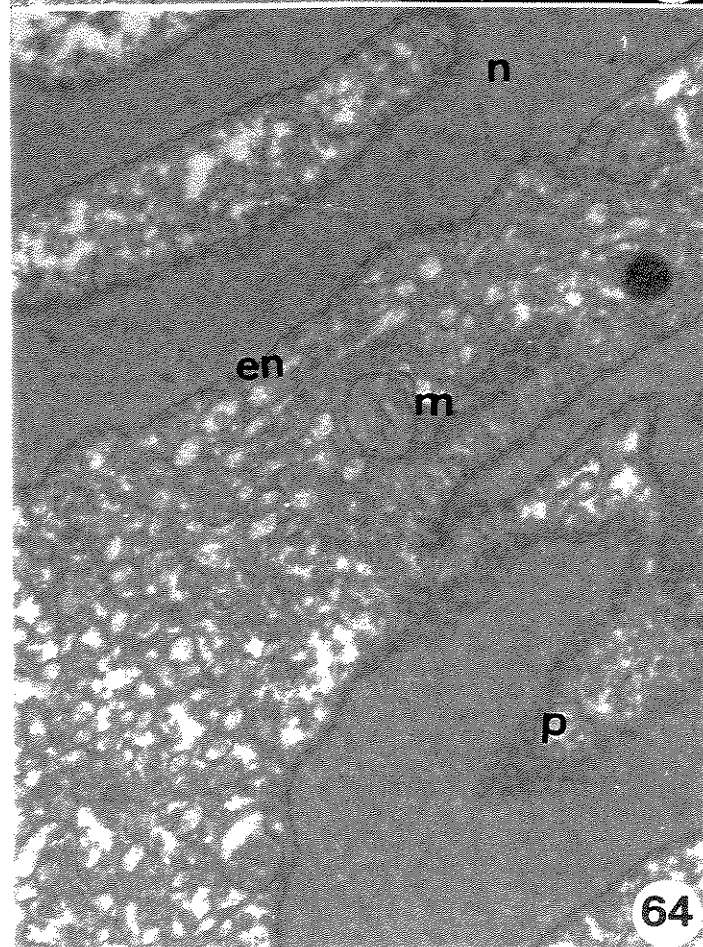
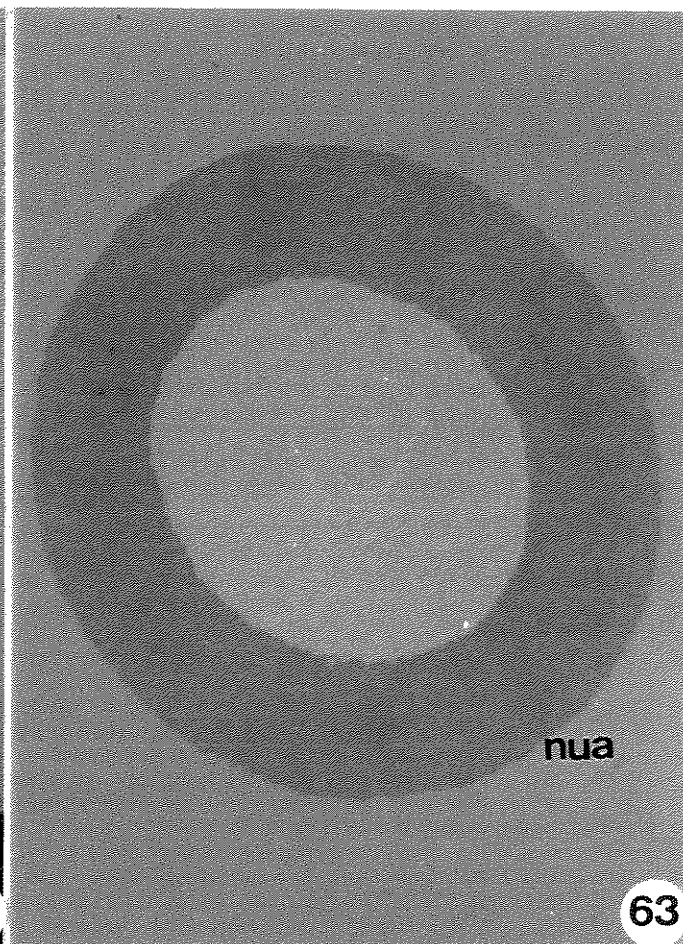
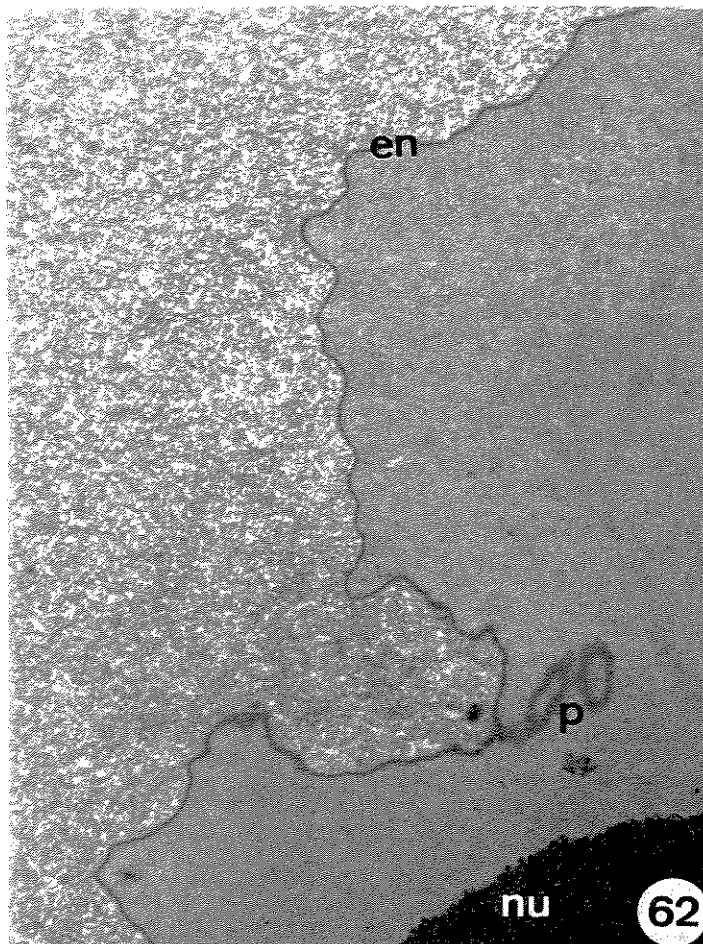


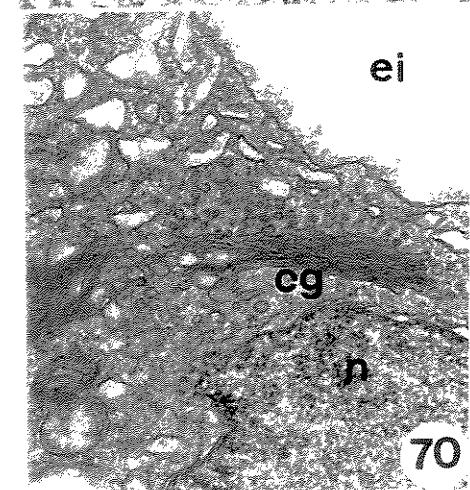
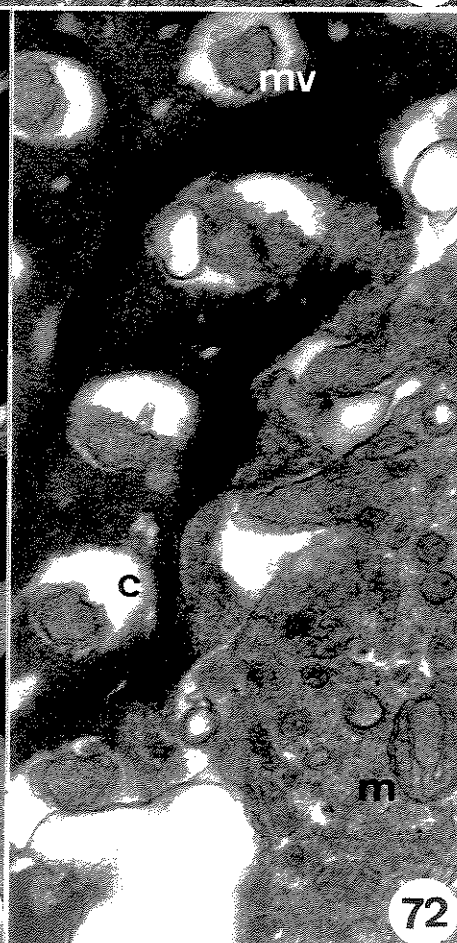
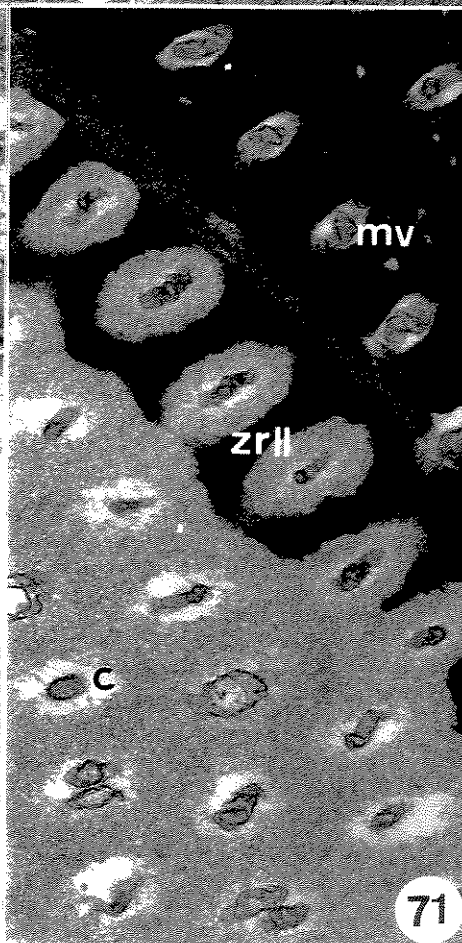
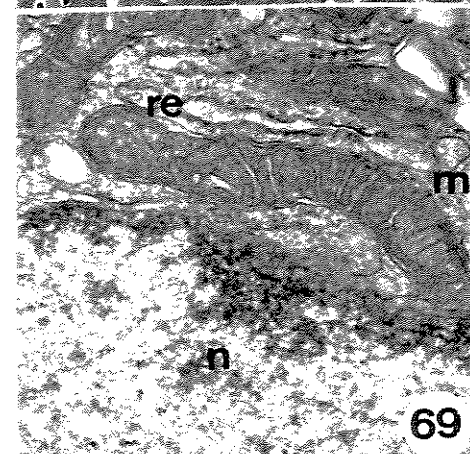
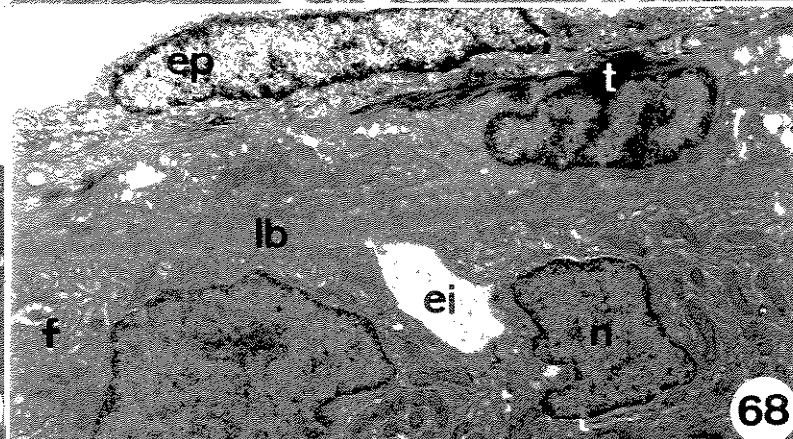
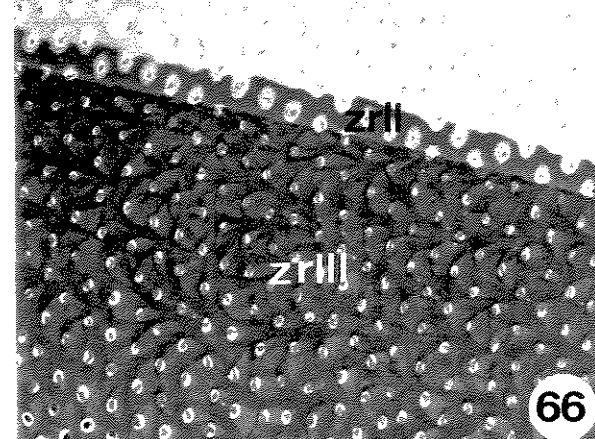
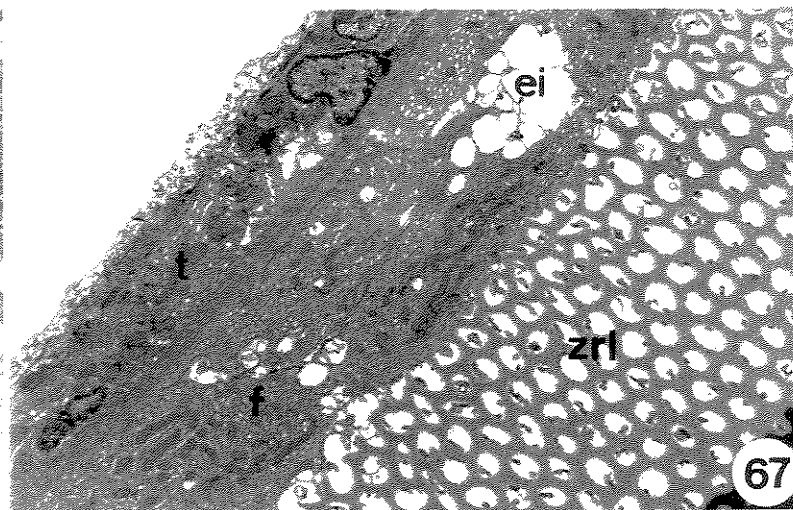
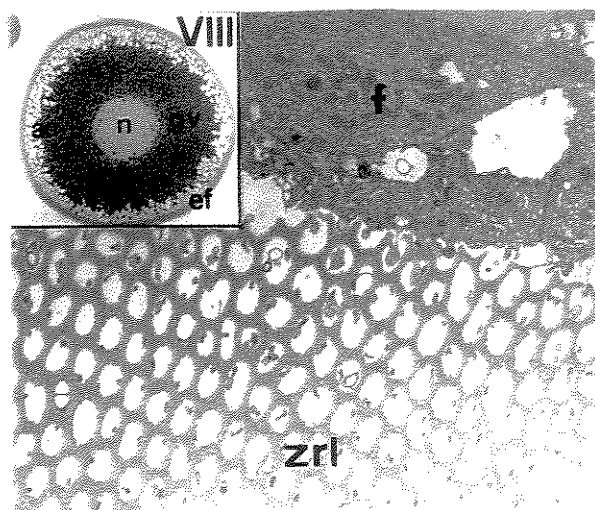


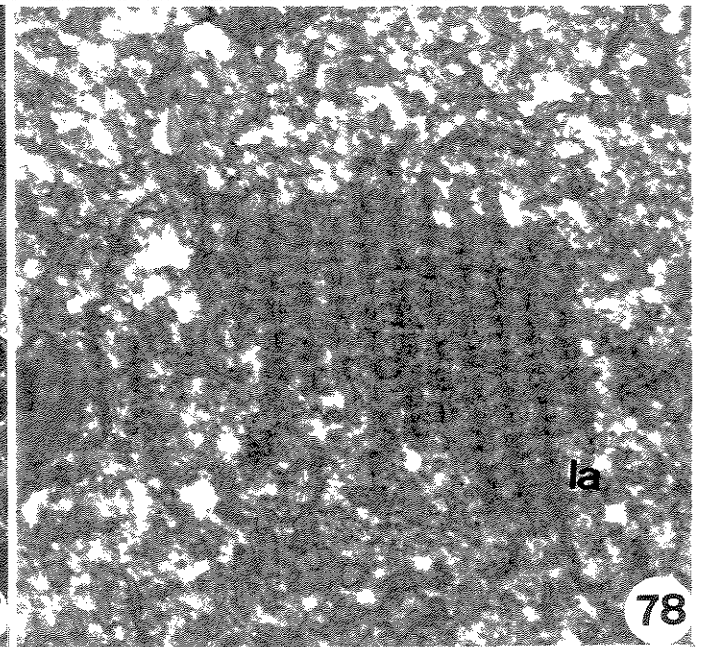
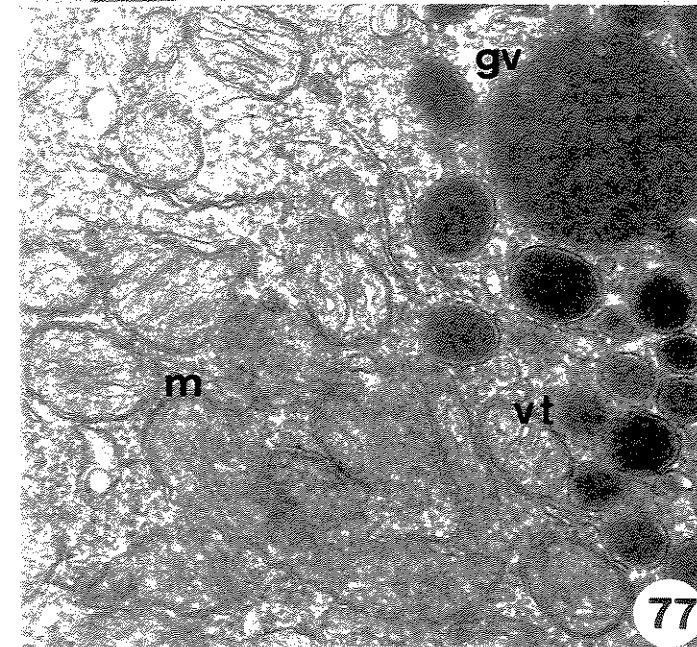
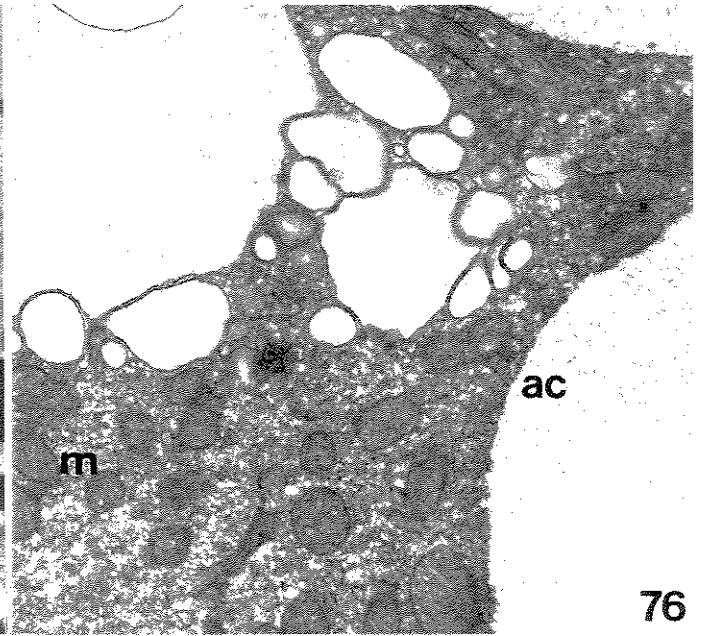
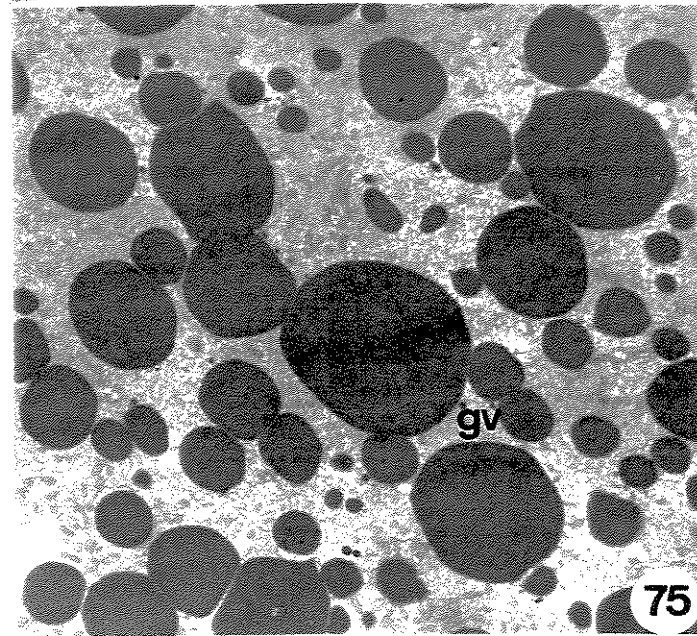
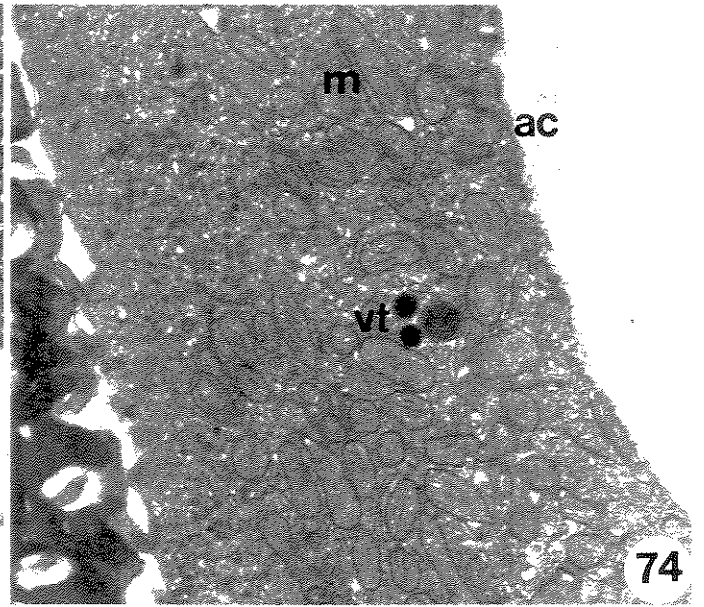
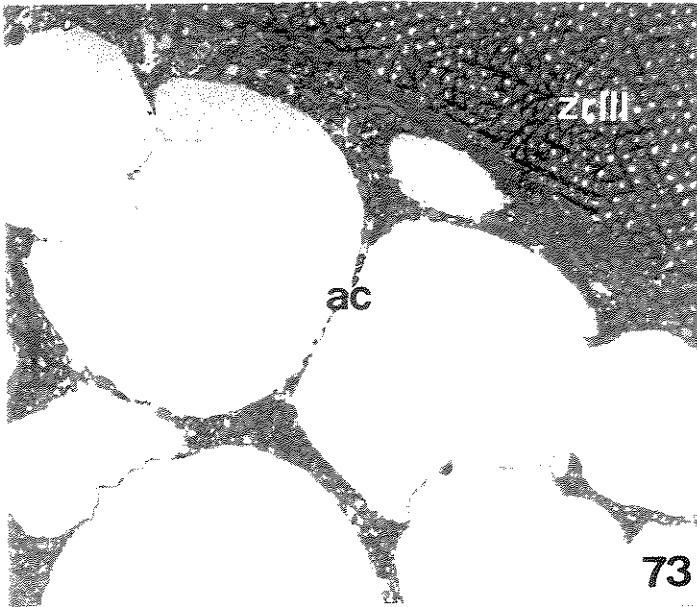


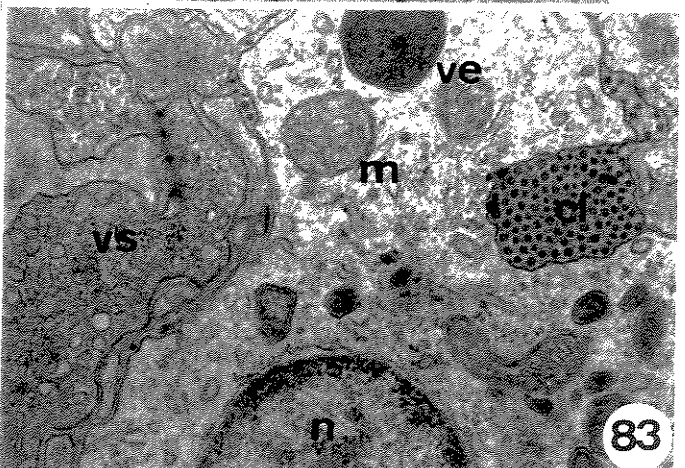
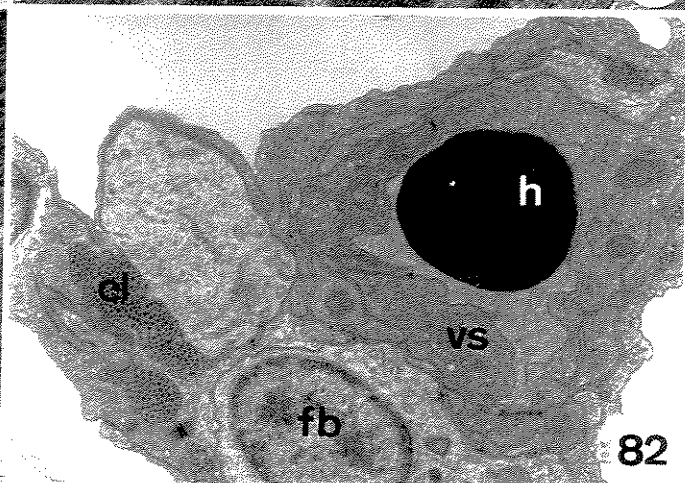
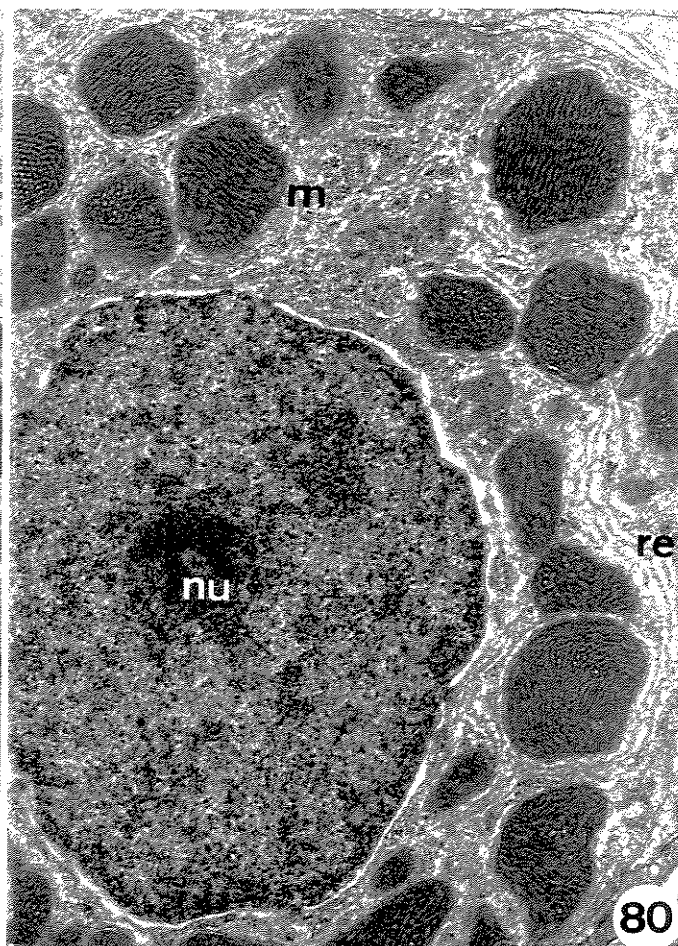
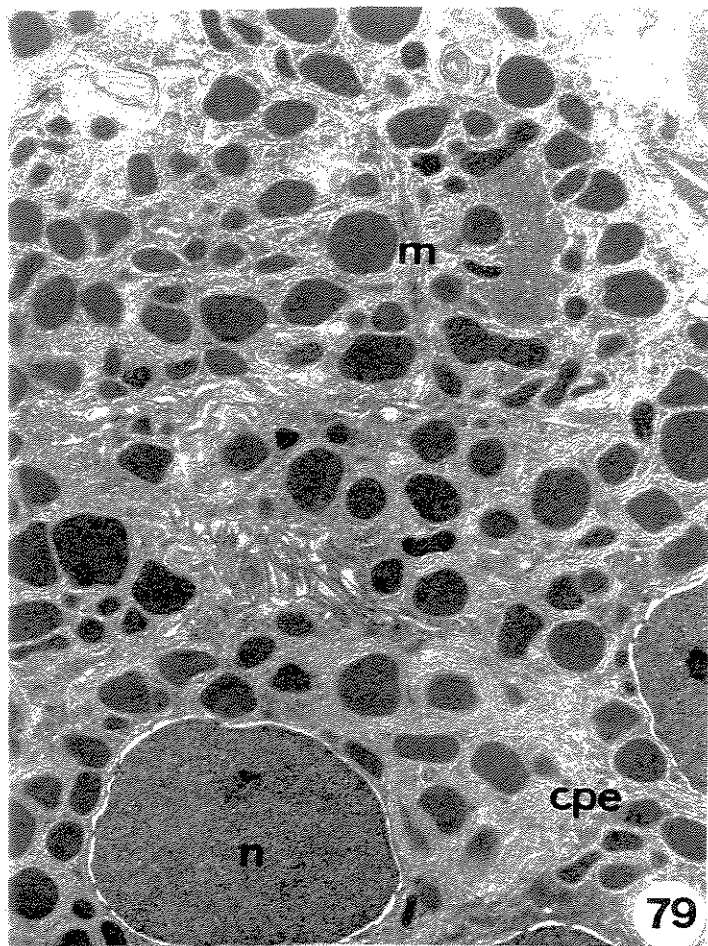


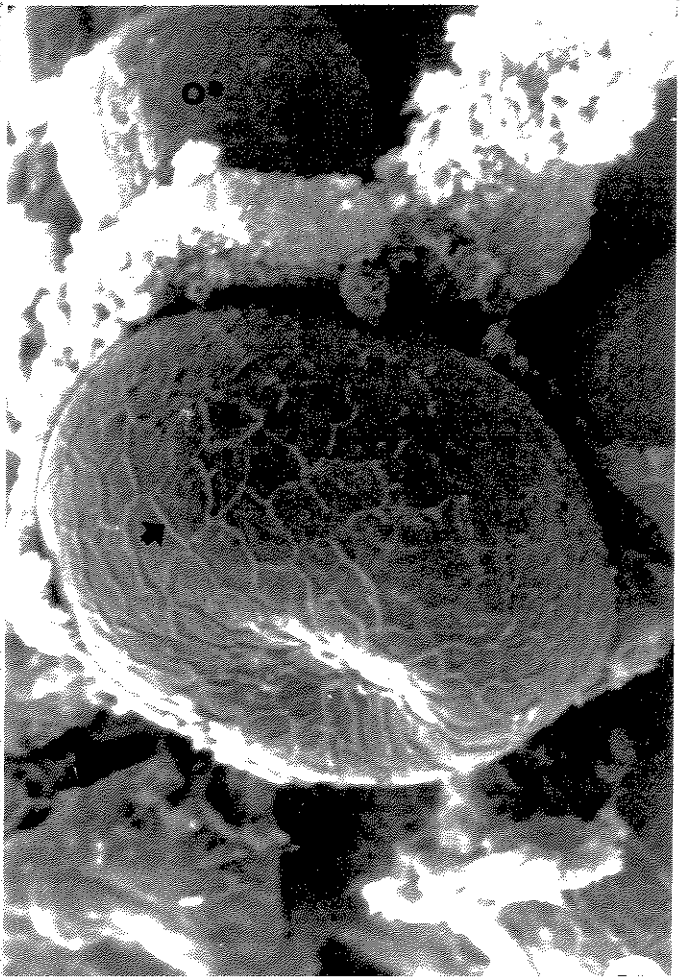
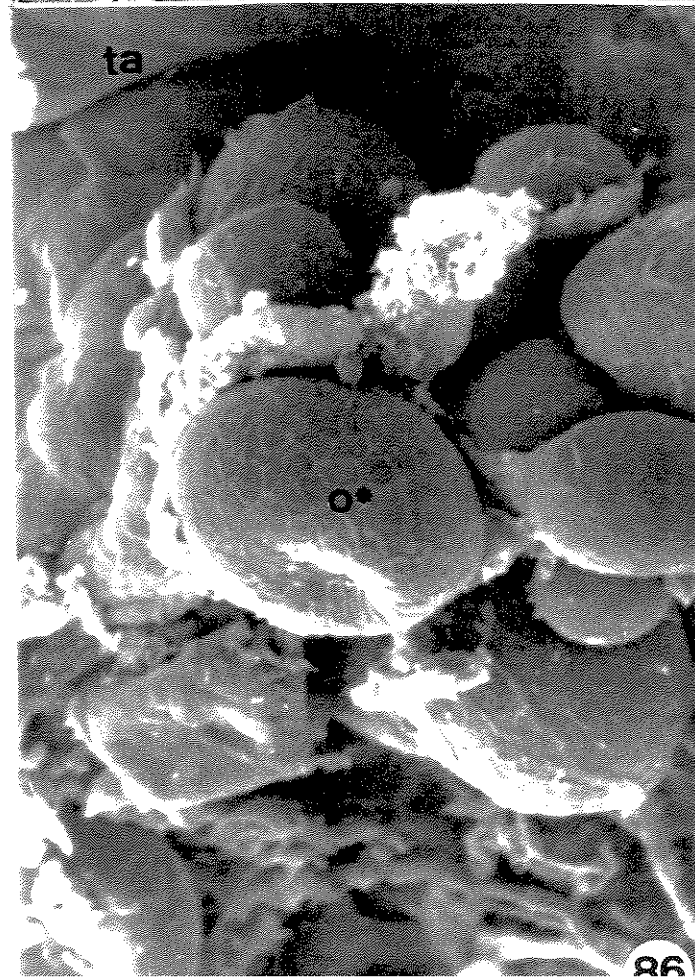
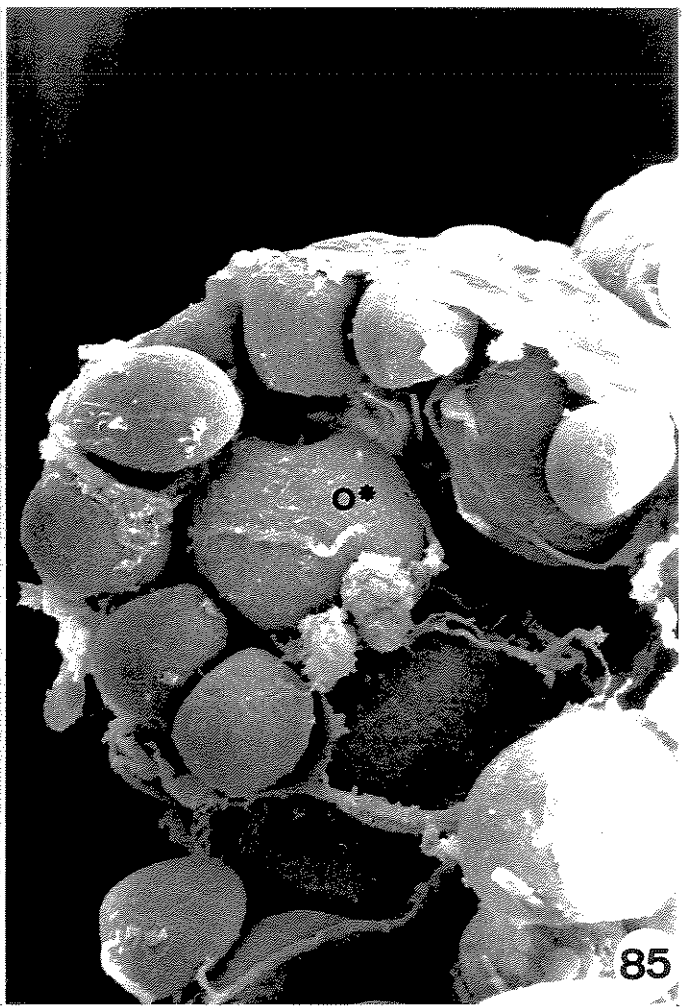
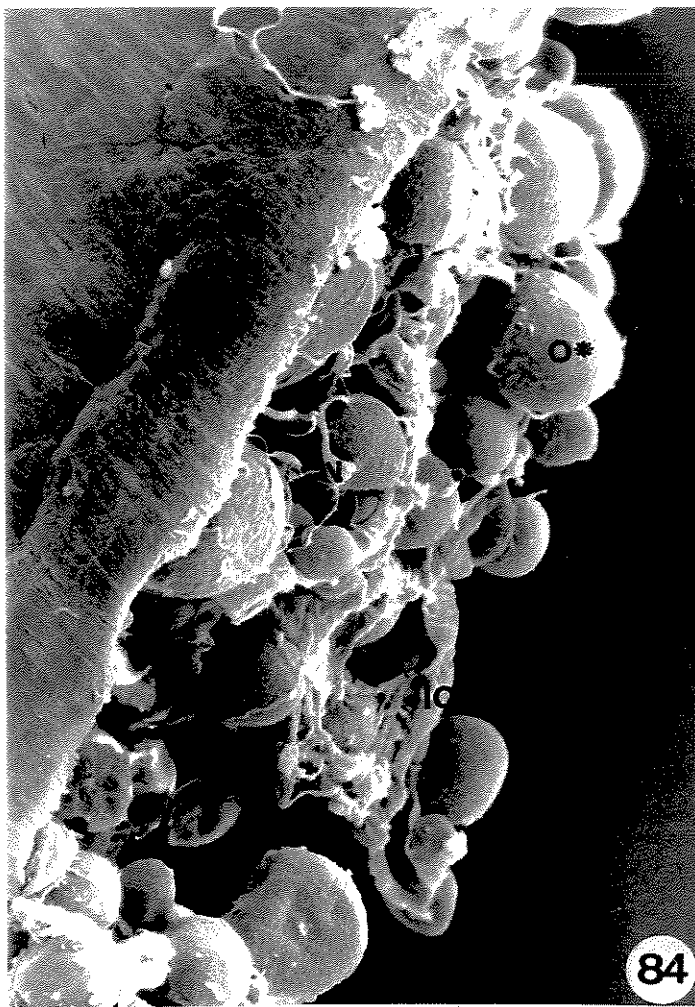












Discussão

A gametogênese feminina nos teleósteos compreende a oogênese e os crescimentos primário e secundário dos oócitos. O último inclui a formação de alvéolos corticais, a vitelogênese e culmina com a ovulação (WALLACE & SELMAN, 1981; SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996).

Nos ovários, as oogônias apareceram em ninhos inseridos nas lamelas ovígeras (GURAYA *et al*, 1975; SHACKLEY & KING, 1977; DE VLAMING, 1983; CHAVES & VAZZOLER, 1984; AGOSTINHO *et al*, 1987; BEGOVAC & WALLACE, 1988; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; MATKOVIC & PISANÓ, 1989; AFONSO-DIAS & HISLOP, 1996; TYLER & SUMPTER, 1996) e, em *S. spilopleura*, como em *Syngnathus scovelli*, Syngnathidae (BEGOVAC & WALLACE, 1988), os ninhos podem conter também os oócitos primários iniciais.

As oogônias em *S. spilopleura* são as menores células da linhagem germinativa feminina, tem núcleo grande, normalmente com nucléolo único. Apresentam citoplasma escasso, contendo mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, “nuages” e figuras mielínicas ocasionais. À exceção das últimas, as demais características morfológicas tem sido citadas como comuns para esse tipo celular (DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; BEGOVAC & WALLACE, 1988; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; GRANDI & COLOMBO, 1997). Figuras mielínicas, em geral associadas à artefatos de técnica, como mitocôndrias com preservação inadequada, podem representar, nesse caso, resíduos de digestão intracelular.

Os oócitos primários iniciais são originados do recrutamento das oogônias para a meiose. Em zigóteno e paquíteno são facilmente

detectados pela presença dos complexos sinaptonêmicos no núcleo e pelos agregados juxt nucleares formados pelas organelas citoplasmáticas (DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; BEAMS & KESSEL, 1973; KHOO, 1979; BEGOVAC & WALLACE, 1988; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; SELMAN & WALLACE, 1989; NAKAMURA & NAGAHAMA, 1993; GRANDI & COLOMBO, 1997). A associação da cromatina aos componentes laterais desses complexos, conforme descrita em *Anguilla anguilla*, Anguillidae (GRANDI & COLOMBO, 1997); convive em *S. spilopleura* com a presença do nucléolo.

Nos ninhos, tendo efetuado a troca gênica e atingido o diplóteno, os oócitos primários iniciais recebem um envoltório formado por algumas células pré-foliculares pavimentosas e dão origem aos folículos primordiais (BEGOVAC & WALLACE, 1988; NAKAMURA & NAGAHAMA, 1993; GRANDI & COLOMBO, 1997). Os oócitos diplotênicos deixam os ninhos e iniciam o período de crescimento primário (WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990). Decorrente do seu padrão reprodutivo, contínuo e não sazonal (LAMAS & GODINHO, 1996), *S. spilopleura* apresenta produção de folículos primordiais ao longo do ano todo.

Algumas descrições não trazem os oócitos primários iniciais entre os estágios de desenvolvimento oocitário (YAMAMOTO, 1964, ANDERSON, 1968, BEAMS & KESSEL, 1973; SHACKLEY & KING, 1977; BRUSLÉ, 1980; CHAVES & VAZZOLER, 1984; AGOSTINHO *et al.*, 1987; BAZZOLI & RIZZO, 1990). Tal fato pode estar relacionado à dificuldade de observação e distinção desse tipo celular, frequentemente confundido com oogônias, nas descrições

histológicas, e até mesmo nos estudos ultraestruturais mais antigos.

Durante o crescimento primário, nos oócitos pré-vitelogênicos dos teleósteos e conseqüentemente nos de *S. spilopleura*, as organelas membranosas tornam-se mais numerosas e extensas, e, grande quantidade de RNA e proteínas se acumula no citoplasma, resultando no aumento do volume celular (WALLACE & SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990). No núcleo, o aparecimento de múltiplos nucléolos indica a intensa atividade de transcrição de RNA ribossomal em adição ao RNA heterogêneo nuclear, característicos desse tipo celular (SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996). Nesses oócitos, a morfologia e o número de nucléolos pode variar, mostrando as regiões granular e fibrilar mais ou menos desenvolvidas, formato alongado ou arredondado, ou ainda serem anelados ou vacuolizados (YAMAMOTO, 1964; DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; BEAMS & KESSEL, 1973; SHACKLEY & KING, 1977; CRUZ-LANDIN & CRUZ-HÖFLING, 1979; BRUSLÉ, 1980; BARBIERI & BARBIERI, 1985; LOPES *et al.*, 1987; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; BAZZOLI & RIZZO, 1990). Em *S. spilopleura*, em geral são arredondados, podendo apresentar-se na forma de anel.

Nos oócitos pré-vitelogênicos de *S. spilopleura*, o envoltório nuclear apresenta grande quantidade de poros, e, na região citoplasmática perinuclear, se concentram granulações elétron-densas, semelhantes aos componentes nucleolares. As granulações se agregam formando as “nuages”. Essas estruturas estão sempre presentes nas células germinativas

iniciais de todos os animais (EDDY, 1975) e são bastante desenvolvidas nos oócitos dos teleósteos (YAMAMOTO, 1964; DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; BEAMS & KESSEL, 1973; BRUSLÉ, 1980; WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983; NAGAHAMA, 1983). Próximas às “nuages” aparecem “lamellae anulata”. Documentadas nos Salmonidae (KESSEL, 1981) e Cyprinidae (KESSEL *et al.*, 1984), não foram observadas em *S. spilopleura* nessa etapa do desenvolvimento.

Nos oócitos pré-vitelogênicos surge ainda o corpúsculo de Balbiani, formado pelos agregados de material fibrogranular associados a uma população heterogênea de organelas (mitocôndrias, corpos multivesiculares, retículo endoplasmático, complexo de Golgi) (GURAYA, 1979; TYLER & SUMPTER, 1996). Essa estrutura, inicialmente próxima ao núcleo, migra para região citoplasmática periférica onde se dispersa. (YAMAMOTO, 1964; DROLLER & ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; BEAMS & KESSEL, 1973; BEGOVAC & WALLACE, 1988; COELLO & GRIMM, 1990; BAZZOLI & GODINHO, 1995). Em *S. spilopleura*, os agregados de mitocôndrias associados à material fibrogranular ou “nuages”, nas proximidades das quais podem ser observadas outras organelas membranosas, encontram-se espalhados pela região citoplasmática periférica ao núcleo, numa disposição semelhante à descrita em representantes das famílias Cyprinidae, Heteropneustidae, Bagridae, Channidae e Mastacembelidae (NAYYAR, 1964).

O citoplasma periférico desses oócitos contém, em *S. spilopleura*, além de vesículas não elétron-densas, oriundas provavelmente de processo endocítico, grande quantidade de corpos multivesiculares, muito semelhantes àqueles observados nos Poeciliidae (DROLLER & ROTH, 1966) e Salmonidae (SIRE *et al.*, 1994). As vesículas possivelmente contêm substâncias exógenas que podem ser provenientes tanto das células foliculares e da teca, quanto da circulação sanguínea materna.

Dando início a formação da zona radiata, na região apical das células foliculares e na superfície do oócito pré-vitelogênico aparecem microvilosidades, e entre elas começa a deposição de substância amorfa. Esse processo, conforme documentado em *S. spilopleura*, não difere do observado em outros teleósteos (ANDERSON, 1967; ULRICH, 1969; AZEVEDO, 1974; WOURMS, 1976; TESORIERO, 1977; WALLACE & SELMAN, 1981; RIEHL, 1984; SELMAN & WALLACE, 1989).

Ainda durante o crescimento primário, se diferenciam os componentes do envoltório folicular (SELMAN & WALLACE, 1989), e os oócitos tornam-se sequencialmente envoltos por uma camada de células foliculares pavimentosas, uma camada de células oriundas do tecido conjuntivo, as células da teca e, entre elas, a lâmina basal (WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983; ABRAHAM *et al.*, 1984; GURAYA, 1986; BEGOVAC & WALLACE, 1988). Essa organização do envoltório folicular é encontrada também em *S. spilopleura*.

Terminado o crescimento primário, os oócitos entram em crescimento secundário (DE VLAMING, 1983). Os eventos celulares que ocorrem no começo do crescimento secundário indicam também o início do preparo para a reprodução. Nas espécies de importância econômica, esse momento tem recebido uma atenção especial. Alguns autores denominam essa etapa do desenvolvimento oocitário de alvéolo cortical (DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1967; ULRICH, 1969; IWAMATSU & KEINO, 1978; SELMAN & WALLACE, 1989), ou alvéolo cortical em formação (DE VLAMING, 1983; BEGOVAC & WALLACE, 1988). A última, utilizada em *S. spilopleura*, retrata com maior fidelidade os eventos celulares desse período, em que os alvéolos corticais encontram-se ainda em fusão.

Os alvéolos corticais são estruturas esféricas, delimitadas por membrana, de conteúdo não elétron-denso e de aparência fibrilar, que surgem inicialmente no citoplasma periférico do oócito, passando a preenchê-lo quase que completamente no final dessa fase. Sua formação em *S. spilopleura* corresponde à que tem sido observada nesse grupo de animais (WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983; NAGAHAMA, 1983; GURAYA, 1986; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996).

Os oócitos de representantes das famílias Poeciliidae (DROLLER E ROTH, 1966), Fundulidae (ANDERSON, 1968), Syngnathidae (ANDERSON, 1968; BEGOVAC & WALLACE, 1988) Cyprinidae (ULRICH, 1969), Adrianichthyidae (IWAMATSU & KEINO, 1978), Auchenipteridae (BAZZOLI & GODINHO, 1994), podem apresentar um nucleóide elétron-denso nos alvéolos corticais. Esse

tipo de estrutura não ocorre em *S. spilopleura*, cujos alvéolos corticais contêm estruturas filamentosas que lembram proteoglicanas.

Ainda em *S. spilopleura*, próximo ao núcleo, em alguns oócitos com alvéolos corticais em formação, surgem vesículas com conteúdo elétron-denso heterogêneo, algumas das quais parecem ter continuidade com o retículo endoplasmático. Tais vesículas assemelham-se às descritas nos Salmonidae, e sugere-se que participem do sistema endossomo/lisossomo, responsável pelo processamento de proteínas vitelogênicas (SIRE *et al.*, 1994).

Nesse estágio do desenvolvimento oocitário, em *S. spilopleura* o núcleo apresenta contorno altamente irregular, com chanfraduras, nas quais localizam-se os nucléolos. O envoltório nuclear mostra-se totalmente tomado de poros. O aumento de extensão de membrana e da quantidade de poros decorrente do intenso processo de troca núcleo-citoplasma, são característicos desse tipo celular (YAMAMOTO, 1964; ANDERSON, 1968; LOPES *et al.*, 1987; BAZZOLI & RIZZO, 1990).

Outra característica do período inicial de formação dos alvéolos corticais, é o aparecimento de corpos lipídicos, que se continua durante a vitelogênese em algumas espécies de teleósteos (TYLER & SUMPTER, 1996). Em *S. spilopleura*, como em outras espécies, essa deposição pode não ocorrer ou não ser expressiva (TYLER & SUMPTER, 1996). A presença de lipídios está associada à flutuabilidade dos ovos nas espécies de água doce (CRAIK & HARVEY, 1987). De acordo com seu baixo conteúdo lipídico, os ovos

dos Serrasalmiinae não são flutuantes (BRACKER, 1963).

A formação da zona radiata propriamente dita, também ocorre nesse período (YAMAMOTO, 1963; DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1967; HIROSE, 1972; TESORIERO, 1977; LAALE, 1980; LOPES *et al.*, 1982, 1987; BEGOVAC & WALLACE, 1988; COTELLI *et al.*, 1988; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989; MAKEYEVA & YEMEL'YANOVA, 1989; WEST, 1990) e em *S. spilopleura*, ela se torna mais espessa em decorrência do acúmulo de substância amorfa.

O envoltório folicular dos oócitos com alvéolos corticais em formação de *S. spilopleura*, bem como de outros Characiformes (RIZZO & BAZZOLI, 1990) e Syngnathidae (BEGOVAC & WALLACE, 1988) mantém o mesmo padrão organizacional e morfológico dos oócitos pré-vitelogênicos.

A vitelogênese tem início com a deposição dos grânulos de vitelo (WALLACE & SELMAN, 1981; DE VLAMING, 1983; NAGAHAMA, 1983; SELMAN & WALLACE, 1989; WEST, 1990; TYLER & SUMPTER, 1996). Esta está relacionada principalmente com a micropinocitose de proteínas extra ovarianas, que são processadas e embaladas no interior dos oócitos dando origem aos grânulos de vitelo (DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; ULRICH, 1969; SELMAN & WALLACE, 1983, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996). Estes migram centriptamente, ocupando todo o citoplasma e deslocam os alvéolos corticais para o citoplasma periférico (SELMAN & WALLACE, 1989). Nos oócitos em vitelogênese de *S. spilopleura*, a dinâmica da deposição de vitelo e a formação dos alvéolos corticais, segue o padrão geral, acrescido da presença de vesículas não elétron-densas, oriundas de endocitose.

As descrições das organelas membranosas, nesse estágio de maturação, apontam a presença de retículo endoplasmático espalhado pelo citoplasma, complexo de Golgi pouco abundante e grande quantidade de mitocôndrias, às vezes contendo grânulos densos (DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1968). À exceção da presença de grânulos densos no interior das mitocôndrias, essas descrições concordam com o observado durante a vitelogênese em *S. spilopleura*.

O núcleo dos oócitos em vitelogênese torna-se menos volumoso em relação ao citoplasma total, mantém o formato irregular (YAMAMOTO, 1964), e pode apresentar nucléolos anelados (RIZZO & BAZZOLI, 1993) numa dinâmica similar a observada em *S. spilopleura*.

A zona radiata em *S. spilopleura* diferencia-se quanto a espessura, número de camadas e pelo padrão de deposição de substância amorfa daquelas descritas em outros teleósteos (YAMAMOTO, 1964; ANDERSON, 1967, 1968; HIROSE, 1972; AZEVEDO, 1974; WOURMS, 1976; LAALE, 1980; ABRAHAM *et al.*, 1984; CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989; SELMAN & WALLACE, 1989). É uma estrutura de proteção e sua maior ou menor espessura depende do local de postura. Apresenta-se mais espessa nos ovos submetidos a forte atrito mecânico do que nos flutuantes ou naqueles depositados em refúgios (IVANKOV & KURDYAYEVA, 1993). A sua espessura em *S. spilopleura* pode estar associada ao local de postura. Este, nos Serrasalminae, ocorre na vegetação submersa marginal (CUTRIGHT, 1942), sujeito portanto a diferentes tipos de atrito.

Nesse estágio, as células foliculares de *S. spilopleura* apresentam-se um pouco mais altas do que as da fase anterior. Mostram abundante retículo endoplasmático granular, complexo de Golgi e mitocôndrias no citoplasma. Assemelham-se ao descrito em representantes das famílias Aplocheilidae (WOURMS, 1976), Syngnathidae (BEGOVAC & WALLACE, 1988), Sciaenidae (CRUZ-LANDIM & CRUZ-HÖFLING, 1989). A presença de vesículas e espaços intercelulares, contendo material amorfo de baixa elétrondensidade, observado em *S. spilopleura*, encontra-se registrada somente em uma espécie de Salmonidae (KOBAYASHI, 1985).

A estrutura oocitária pré-ovulatória é pouco conhecida, no que diz respeito às organelas membranosas. As descrições existentes mostram, no citoplasma cortical, muitas mitocôndrias, retículo endoplasmático granular muito desenvolvido e grande quantidade de dictiossomos (DROLLER E ROTH, 1966; ANDERSON, 1968; KJESBU & KRYVI, 1989). Em *S. spilopleura* ao lado destas e das demais organelas características do final da vitelogênese os oócitos apresentam "lamellae anulata". Estas são pouco desenvolvidas se comparadas às de alguns Cyprinidae (KESSEL *et al.*, 1984), e Salmonidae (KESSEL, 1981). Além disto, na região citoplasmática interna, em *S. spilopleura*, a fusão de vesículas menores aos grânulos elétrondensos persiste, dando continuidade à formação dos grânulos de vitelo.

O acúmulo de proteínas nos oócitos pode continuar ocorrendo durante a fase de maturação, mas é abruptamente interrompido no momento em que o núcleo se desfaz. A fragmentação do envoltório

nuclear com consequente liberação dos cromossomos, indica que o oócito está maduro; pronto para dar sequência à meiose I e posterior à ovulação (TYLER & SUMPTER, 1996).

Como característico das espécies de água doce (CHAVES, 1988), em *S. spilopleura*, os grânulos de vitelo mantêm-se íntegros no oócito maduro. Nos oócitos maduros das espécies marinhas, os grânulos se fundem em uma massa contínua de vitelo (CHAVES, 1988; WEST, 1990). Ainda nessas espécies, ocorre hidratação pré-ovulatória, decorrente da proteólise do vitelo (GREELEY *et al.*, 1986). Esta responde pela flutuabilidade desses ovos (CRAIK & HARVEY, 1987).

As células foliculares atingem seu desenvolvimento total durante a vitelogênese ou ao final desta (HIROSE, 1972). Nos Characidae elas podem manter-se pavimentosas (RIZZO & BAZZOLI, 1993; CARAMASHI *et al.*, 1982; CHAVES, 1988; MATKOVIC & PISANÓ, 1989), tornam-se cilíndricas (LOPES *et al.*, 1987) ou cúbicas como em *S. spilopleura*.

Nesse mesmo período, em *S. spilopleura*, como nos demais teleósteos (SELMAN & WALLACE, 1989; TYLER & SUMPTER, 1996), o envoltório do oócito mostra-se limitado por um epitélio pavimentoso.

As células produtoras de esteróides dos ovários dos peixes teleósteos (GURAYA, 1986), estão presentes nas gônadas em diferenciação dos Cichlidae (NAKAMURA & NAGAHAMA, 1985; NAKAMURA *et al.*, 1993) e Salmonidae (NAKAMURA & NAGAHAMA, 1993) e encontram-se entre as células da teca dos oócitos em desenvolvimento nessas mesmas famílias, Cichlidae

(NICHOLLS & MAPLE, 1972) e Salmonidae (NAKAMURA & NAGAHAMA, 1993).

Nos ovários de *S. spilopleura*, as células produtoras de esteróides apresentam características morfológicas similares às descritas nos Cichlidae (NAKAMURA & NAGAHAMA, 1985; NAKAMURA *et al.*, 1993) e são encontradas entre as células da teca ou em grupamentos associados aos vasos sanguíneos no tecido intersticial.

Conclusões

A análise ultraestrutural da gametogênese feminina de *S. spilopleura*, compreendendo a oogênese e os crescimentos primário e secundário dos oócitos, permitiu a caracterização de seis etapas do desenvolvimento das células da linhagem germinativa feminina e do envoltório folicular que as acompanha, sejam elas:

- Oogônias – são células pequenas com núcleo grande e nucléolo único; encontram-se em ninhos nas lamelas ovígeras.
- Oócitos Primários Iniciais – são células pequenas com núcleo contendo complexos sinaptonêmicos em formação ou completos. Encontram-se também em ninhos inseridos nas lamelas ovígeras.
- Oócitos Pré-vitelogênicos – crescem em volume devido ao aumento progressivo das organelas citoplasmáticas; neles surgem vesículas não elétron-densas na região citoplasmática cortical e tem início a formação da zona radiata. O envoltório folicular é constituído por células foliculares pavimentosas, uma fina lâmina basal e a teca, cujas células são alongadas;
- Oócitos com Alvéolos Corticais em Formação – apresentam os precursores dos alvéolos corticais, de conteúdo filamentoso, na região citoplasmática cortical, as quais fundem-se entre si e com as vesículas não elétron-densas formadas na etapa anterior. A zona radiata torna-se mais espessa. A lâmina basal se desenvolve e o envoltório folicular mantém o padrão descrito.

- Oócitos em Vitelogênese - apresentam grânulos de conteúdo elétron-denso, os quais fundem-se formando os grânulos de vitelo. A zona radiata encontra-se totalmente formada e organiza-se em três camadas de diferentes elétron-densidades. As células foliculares tornam-se menos alongadas e com espaços intercelulares dilatados, enquanto a teca e a lâmina basal mantêm o padrão anterior.
- Oócitos em Vitelogênese Final - os grânulos de vitelo espalham-se por todo o citoplasma e deslocam os alvéolos corticais para a periferia da célula. A zona radiata conserva a estrutura tripartida. As células foliculares apresentam-se cúbicas, as da teca permanecem alongadas e recobertas por um epitélio pavimentoso.

A cinética do desenvolvimento dos gametas femininos, bem como a maioria das características das estruturas celulares, nessa espécie, são muito semelhantes às de espécies pertencentes às mais variadas famílias de peixes teleósteos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, M., HIGLE, V., LISON, S., TIBIKA, H. The celular envelope of oocytes in teleosts. Cell Tissue Res., v. 235, p. 403-10, 1984.
- AFONSO-DIAS, I. P., HISLOP, J. R. G. The reproduction of anglerfish *Lophius piscatorius* Linnaeus from the north-west coast of Scotland. J. Fish Biol., v. 49, suppl. A, p. 18-39, 1996.
- AGOSTINHO, A. A., BARBIERI, M. C., BARBIERI, G. AGOSTINHO, C. S. Biologia reprodutiva de *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Teleostei, Loricariidae) no Rio Paranapanema. II. Estrutura dos ovários e estádios de Maturação. Rev. Bras. Biol., v. 47, p. 319-28, 1987.
- ANDERSON, E. The formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts. J. Cell Biol., v. 35, p. 193-212, 1967.
- ANDERSON, E. Cortical alveoli formation and vitellogenesis during oocyte differentiation in pipefish, *Syngnathus fuscus*, and killifish, *Fundulus heteroclitus*. J. Morphol., v. 125, p 23-60, 1968.
- AZEVEDO, C. Evolution des envelops ovocytaires, au cours de lóvogenese, chez un teleosteen vivipare, *Xiphophorus helleri*. J. Microsc., v. 21, p. 43-54, 1974.
- BARBIERI, M. C., BARBIERI, G. Reprodução de *Gyminotus carapo* (Linnaeus, 1758) na Represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de ovário. Variação sazonal. (Teleostei, Gymnotidae). Rev. Bras. Biol., v. 45, p. 3-12, 1985.

- BAZZOLI, N., GODINHO, H. P. Cortical alveoli in the oocytes of the freshwater neotropical teleost fish. Boll. Zool., v. 61, p. 301-8, 1994.
- BAZZOLI, N., GODINHO, H. P. Comparative morphology of the yolk nucleus (Balbiani body) in freshwater neotropical teleost fish. Rev. Bras. Biol., v. 55, p. 207-14, 1995.
- BAZZOLI, N., RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of oogenesis in ten Brazilian teleost fish species. Eur. Arch. Biol., v. 101, p. 399-410, 1990.
- BAZZOLI, N., RIZZO, E., SANTOS, J. E. Dinâmica da ovogênese em peixes forrageiros da represa de Três Marias, Minas Gerais: estudo histológico e histoquímica. BIOS, v. 4, p. 5-10, 1996.
- BEAMS, H. W., KESSEL, R. G. Oocyte structure and early vitellogenesis in the trout, *Salmo gairdneri*. Am. J. Anat., v. 136, p. 105-22, 1973.
- BEGOVAC, P. C., WALLACE, R. A. Stages of oocyte development in the pipefish, *Syngnathus scovelli*. J. Morphol., v. 197, p. 353-69, 1988.
- BEGOVAC, P. C., WALLACE, R. A. Major vitelline envelop proteins in pipefish oocytes originate within the follicle and are associated with the Z3 layer. J. Exp. Zool., v. 251, p. 56-73, 1989.

- BRAGA, R. A. Ecologia e etologia de piranhas no nordeste do Brasil (Pisces - *Serrasalmus lacépède*, 1803). São Paulo, 1976. 268p. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- BRACKER, W. P. Black piranhas spawned at Shed Aquarium. Aquarium Phila., v. 32, p. 12-4, 1963.
- BRUMMETT, A. R., DUMONT, J. N., LARKIN, J. R. The ovary of *Fundulus heteroclitus*. J. Morph., v. 173, p 1-16, 1982.
- BRUSLÉ, S. Fine structure of early previtellogenic oocytes in *Mugil (Liza) auratus* Risso, 1810 (Teleostei, Mugilidae). Cell Tissue Res., v. 207, p. 123-34, 1980.
- BULLOUGH, W. S. Gametogenesis and some endocrine factors affecting it in the adult minnow (*Phoxinus laevis* L.). J. Endocrinol., v. 3, p. 211-9, 1942.
- CARAMASCHI, E.P., GODINHO, H.M., FORESTI, F. Reprodução de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) na represa do rio Pardo (Botucatu, SP). I. Histologia e escala de maturação do ovário. Rev. Bras. Biol., v. 42, p. 635-40, 1982.

- CARVALHO, E. D., SILVA, V. F. B., FUJIHARA, C. Y., HENRY, R., FORESTI, F. Diversity of fish species in the River Paranapanema – Jurumirim Reservoir transition region (São Paulo, Brasil). Ital. J. Zool., v. 65, Suppl., 325–30, 1998.
- CHAUDHRY, H. S. The origin and structure of the zona pellucida in the ovarian eggs of teleosts. Z. Zellforsch., v. 43, p. 478–85, 1956.
- CHAVES, P. T. C. Aspectos convergentes da dinâmica ovariana nos peixes, com uma contribuição à biologia reprodutiva de 14 espécies do litoral de São Paulo. São Paulo, 1988. 123p. Tese (Doutorado) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo.
- CHAVES, P. T. C., VAZZOLER, A. E. A. M. Aspectos biológicos de peixes amazônicos. II. Anatomia microscópica de ovários, escala de maturidade e tipo de desova das espécies do gênero *Semaprochilodus*. Rev. Bras. Biol., v. 44, p. 347–59, 1984.
- COELLO, S., GRIMM, A. S. Development of Balbiani's vitelline body in the oocytes of the atlantic mackerel, *Scomber scomburs* L. J. Fish Biol., v. 36, p. 265–7, 1990.
- CLÉROT, J. C. Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens cyprinidés. I. Étude ultrastructurale. J. Ultrastruct. Res., v. 54, p. 461–75, 1976.

- COTELLI, F., ANDRONICO, F., BRIVIO, M. LAMIA, C.L. Structure and composition of the fish egg chorion (*Carassius auratus*). J. Ultrastruc. Mol. Struct. Res., v. 99, p. 70–8, 1988.
- CRAIK, J. C. A., HARVEY, S. M. The causes of buoyance in eggs of marine teleosts. J. Mar. Biol. Ass. U. K., v. 67, p. 169–82, 1987.
- CRUZ-LANDIM, C., CRUZ-HÖFLING, M. A. Comportamento dos nucléolos e mitocôndrios durante a ovogênese de peixes teleósteos de água doce. Acta Amazônica, v. 9, p. 723–8, 1979.
- CRUZ-LANDIM, C., CRUZ-HÖFLING, M. A. Cestudo ao microscópio eletrônico da deposição do envoltório do oócito de peixes: I. *Plogiocion squamosissimum* (Teleostei – Scianidae). Naturalia, v. 14, p. 97–105, 1989.
- CUTRIGHT, P. R. A mais perigosa fera dos nossos rios. A piranha – *Pygocentrus pyraia*. Chácaras e Quintais. São Paulo, v. 65, p. 215–7, 1942.
- DE VLAMING, V. Oocyte development patterns and hormonal involvments among teleosts. In: RANKIN, J. C., PITCHER, T. J., DUGGAN, R. T. Control processes in fish physiology. London: Croom Helm, 1983. p. 176–99.
- DROLLER, M. J., ROTH, T. F. An electron microscopic study of yolk formation during oogenesis in *Lebistes reticulatus* Guppyi. J. Cell Biol., v. 28, p. 209–32, 1966.

- EDDY, E. M. Germ plasm and the differentiation of the germ cell line. Int. Rev. Cytol., v. 43, p. 229-80, 1975.
- FERREIRA, R. M. A., BAZZOLI, N., RIZZO, E., SATO, Y. Aspectos reprodutivos da piranha, *Pygocentrus piraya* (Teleostei, Characiformes), espécie nativa da bacia do Rio São Francisco. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 48, Supl. 1, p. 71-6, 1996.
- FLORES, J. A., BURNS, J. R. Ultrastructural study of embryonic and early adult germ cells, and their support cells, in both sexes of *Xiphophorus* (Teleostei: Poeciliidae). Cell Tissue Res., v. 271, p. 263-70, 1993.
- FUJIHARA, C. Y. Dinâmica populacional de *Serrasalmus spilopleura*, Kner, 1860 no reservatório de Jurumirim (rio Paranapanema, SP): aspectos do crescimento, estrutura populacional, reprodução e nutrição. Botucatu, 1997. 91p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- GRANDI, G., COLOMBO, G. Development and early differentiation of gonad in the european eel (*Anguilla anguilla* [L.], Anguilliformes, Teleostei): A cytological and ultrastructural study. J. Morphol., v. 231, p. 195-216, 1997.
- GREELEY JR., M. S., CALDER, R., WALLACE, R. A. Changes in teleost yolk proteins during oocyte maturation: hydration. Comp. Biochem. Physiol., v. 84B, p.1-9, 1986.

- GRIERSON, J. P., NEVILLE, A. C. Helicoidal architecture of fish eggshell. Tissue Cell, v. 13, p. 819-30, 1981.
- GURAYA, S. S. Recent advances in the morphology, cytochemistry, and function of Balbian's viteline body in animal oocytes. Int. Rev. Citol., v. 59, p 249-321, 1979.
- GURAYA, S. S. The cell and molecular biology of fish oogenesis. Monographs in development biology. New York: Karger, 1986. Vol. 18, 223p.
- GURAYA, S. S., KAUR, R., SAXENA, P. K. Morphology of ovarian changes during the reproductive cycle of the fish, *Mystus tengara* (Ham.). Acta Anat., v. 91, p. 222-60, 1975.
- HIROSE, K. The ultrastructure of the ovarian follicle of Medaka, *Onyzyas latipes*. Z. Zellforsch., v. 123, p. 316-29, 1972.
- ISAAC-NAHUM, V. J., VAZZOLER, A. E. A. M., ZANETTI-PRADO, E. M. 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. Bol. Inst. Oceanogr., v. 32, p. 1-16, 1983
- IVANKOV, V. N., KURDYAYEVA, V. P. Systematic differences and ecological importance of the membranes in fish eggs. J. Ichtyol. v. 13, p. 864-73, 1993.

- IWAMATSU, T., KEINO, H. Scanning electron microscopic study on the surface change of eggs of the teleost, *Oryzias latipes*, at the time of fertilization. Dev. Growth & Differ., v. 20, p. 237-50, 1978.
- KAGAWA, H., YOUNG, G., ADACHI, S., NAGAHAMA, Y. Estradiol-17 β production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: role of the thecal and granulosa cells. Gen. Comp. Endocrinol., v. 47, p. 440-8, 1982.
- KESSEL, R. G. Annulate lamellae and polyribossomes in young oocytes of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Submicrosc. Cytol., v. 13, p. 231-52, 1981.
- KESSEL, R. G., BEAMS, H. W., TUNG, H.N. Structural variations and transformations in annulate lamellae development during oogenesis in the zebrafish, *Brachydario rerio*. J. Submicrosc. Cytol., v. 16, p. 511-20, 1984.
- KHOO, K. H. The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis en gold fish ovaries. Can. J. Zool., v. 57, p. 617-26, 1979.
- KJESBU, O. S., KRYVI, H. Oogenesis in cod, *Gadus morhua* L., studied by light and electron microscopy. J. Fish Biol., v. 34, p. 735-46, 1989.
- KOBAYASHI, W. Communications of oocyte-granulosa cells in the chum salmon ovary detected by transmission electron microscopy. Dev. Growth & Differ., v. 27, p. 553-61, 1985.

- KOBAYASHI, W., YAMAMOTO, T. S. Fine structure of the micropylar cells and its change during oocyte maturation in the chum salmon, *Oncarhynchus keta*. J. Morphol., v. 184, p. 263–76, 1985.
- KOYA, Y., TAKANO, K., TAKAHASHI, H. Annual changes in fine structure of inner lining of the ovary of a marine sculpin, *Alcichthys alcicornis* (Teleostei: Scorpeoniformes), with internal gametic association. J. Morphol., v. 223, p. 85–97, 1995.
- LAALE, H. W. The perivitelline space and egg envelopes of bony fish: a review. Copeia, v. 2, p. 210–26, 1980.
- LAHNSTEINER, F., WEISMANN, T., PATZNER, R. A. Structure and function of the ovarian cavity and oviduct and composition of the ovarian fluid in the bleak, *Alburnus alburnus* (Teleostei, Cyprinidae). Tissue Cell, v. 29, p. 305–14, 1997.
- LAMAS, I. R., GODINHO, A. L. Reproduction in the piranha *Serrasalmus spilopleura*, a neotropical fish with an usual pattern of sexual maturity. Environ. Biol. Fishes, v. 45, p. 161–8, 1996.
- LEÃO, E. L. M., LEITE, R. G., CHAVES, P. T. C., FERRAZ, E. Aspectos da reprodução, alimentação e parasitofauna de uma espécie rara de piranha, *Serrasalmus altuvei* Ramírez, 1956 (Pisces, Serrasalminidae) do baixo rio Negro. Rev. Bras. Biol., v. 51, p. 545–53, 1991.

- LOPES, R. A., LEME DOS SANTOS, H. S., COSTA, J. R.V., PELIZARO, M. G., CASTIGNOLI, N. Histochemical study of oocyte zona radiata of the Lambari *Astyanax bimaculatus lacustris* - Linnaeus, 1758 (Osteichthyes: Characidae). Zool. Anz., v. 208, p. 265-8, 1982.
- LOPES, R. A., WATANAB, L., NUTI-SOBRINHO, A., SANTOS, H. S. L., PAULA-LOPES, O. V. On the reproduction of brazilian fishes. XIII. Scanning electron microscopic study of the rhythm of development in oocyte of the lambari (*Astyanax bimaculatus*) Reinhardt 1874 (Pisces, Characidae). Rev. Bras. Ciên. Morfol., v. 4, p. 99-105, 1987.
- MACHADO-ALLISON, A. Estudios sobre la sistemática de la subfamilia Serresalminae (Teleostei, Characidae) Parte II. Discusion sobre la condicion monofilética de la subfamília. Acta Biol. Venez., v. 11, p. 145-95, 1983.
- MAKEYEVA, A. P., YEMEL'YANOVA, N. G. Periodization of oogenesis in cyprinids. J. Ichthyol., v. 29, p. 55-67, 1989.
- MATKOVIC, M., PISANÓ, A. Oogenesis and ovulation in normal conditions or induced by homologus hypophysis in *Hoplias M. malabaricus* (Pisces, Erythrynidae). Rev. Bras. Biol., v. 49, p.203-12, 1989.
- MYERS, G. S. The amazon and its fishes (Part V). A monograph on the piranha. II. Aquarium J., v. 20, p. 76-85, 1949.

- NAGAHAMA, Y. The functional morphology of teleost gonads. In: HOAR, W.S., RANDALL, D.J., DONALDSON, E.M. (Eds). Fish physiology, New York: Academic Press. 1983. v. 9A, p. 233-73.
- NAKAMURA, M., NAGAHAMA, Y. Steroid-producing cells during ovarian differentiation of the tilapia, *Sarotherodon niloticus*. Dev. Growth & Differ., v. 27, p. 701-8, 1985.
- NAKAMURA, M., NAGAHAMA, Y. Ultrastructur study on the differentiation and development of steroid-producing cells during ovarian differentiation in the amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*, Aquaculture, v. 112, p. 237-51, 1993.
- NAKAMURA, M., SPECKER, J. L., NAGAHAMA, Y. Ultrastructural analysis of the developing follicle during early vitellogenesis in tilapia, *Oreochromis niloticus*, with special reference to the steroid-producing cells. Cell Tissue Res., v. 272, p. 33-9, 1993.
- NAKASHIMA, S., IWAMATSU, T. Ultrastructural changes in micropylar cells and formation of the micropyle during oogenesis in the Medaka *Oryzias latipes*. J. Morphol., v. 202, p. 339-49, 1989.
- NAKASHIMA, S., IWAMATSU, T. Ultrastructural changes in micropylar and granulosa cells during in vitro oocyte maturation in the Medaka, *Oryzias latipes*. J. Exp. Zool., v. 270, p. 547-56, 1994.
- NAYYAR, R. P. The yolk nucleus of the fish oocytes. Q. J. Microsc. Sci., v. 105, p. 353-8, 1964.

- NICHOLLS, T. J., MAPLE, G. Ultrastructural observation on possible site of steroid biosynthesis in the ovarian follicular epithelium of two species of Cichlid fish, *Cichlosoma nigrofasciatum* and *Haplochromis multicolor*, Z. Zellforsch., v. 128, p. 317-35, 1972.
- OHTA, T., IWAMATSU, T., TAKAMA, M., YOSHIMOTO, Y. Cortical alveolus breakdown in the eggs of the freshwater teleost *Rhodeus ocellatus ocellatus*. Anat. Rec., v. 227, p. 486-96, 1990.
- RIEHL, R. The oocytes of Goby *Pomatoschistus minutus*. IV. Electron microscopic autoradiography of [³H]-proline incorporation. Cytologia, v. 49, p. 127-42, 1984.
- RIZZO, E., BAZZOLI, N. Oogenesis, oocyte surface and micropylar apparatus of *Prochilodus affinis* Reinhardt, 1874 (PISCES, Characiformes). Eur. Arch. Biol., v. 104, p. 1-6, 1993.
- RODRIGUES, J. D., MOTA, A., MORAES, M. N., FERREIRA, A. E. Curvas de maturação gonadal e crescimento de fêmeas de pirambeba, *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1859 (Pisces, Cypriniformes). Bol. Inst. Pesca, v. 5, p. 51-63, 1978.
- SELMAN, K., WALLACE, R. A. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. III. Vitelogenesis. J. Exp. Zool., v. 226, p. 441-57, 1983.
- SELMAN, K., WALLACE, R. A. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. Zool. Sci., v. 6, p. 211-31, 1989.

- SELMAN, K., WALLACE, R. A., BARR, V. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. V. The relationship of yolk vesicle and cortical alveoli. J. Exp. Zool., v. 246, p. 42-56, 1988.
- SHACKLEY, E. S., KING, P. E. Oogenesis in a marine teleost, *Blennius pholis* L. Cell Tiss. Res., v. 181, p. 105-28, 1977.
- SIRE, M. F., BABIN, P. J., VERNIER, J. M. Involvement of the lysosomal system in yolk protein deposit and degradation during vitellogenesis and embryonic development in trout. J. Exp. Zool., v. 269, p. 69-83, 1994.
- TAKANO, K. Fine structure of the wall of the ovarian lumen in the teleost, *Oryzias latipes*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., v. 19, p. 76-82, 1968.
- TELES, M. E. O., GODINHO, H. P. Ciclo reprodutivo da pirambeba *Serrasalmus branditii* (Teleostei, Characidae) na Represa de Três Marias, Rio São Francisco. Rev. Bras. Biol., v. 57, p. 177-84, 1997.
- TESORIERO, J. V. Formation of the chorion (zona pellucida) in the teleost, *Oryzias latipes*. I. Morphology of early oogenesis. J. Ultrastruct. Res., v. 59, p. 282-91, 1977.
- TOSHIMORI, K., YASUZUMI, F. Gap junctions between microvilli of an oocyte and follicle cells in teleost (*Plecoglossus altivelis*). Z. Mikrosk Anat. Forsch (Leipz.), v. 93, p. 458-64, 1979.

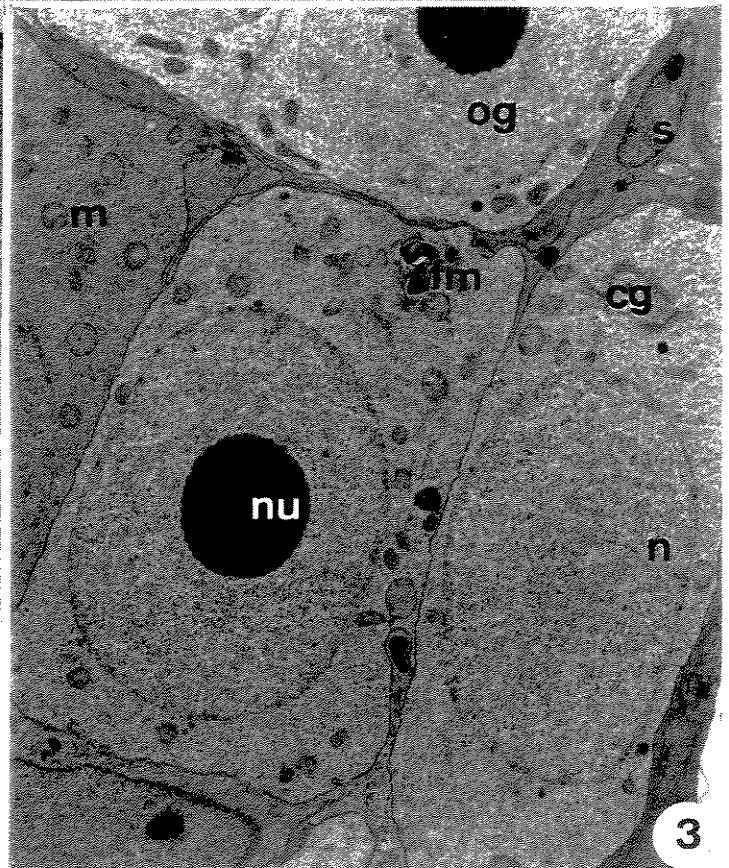
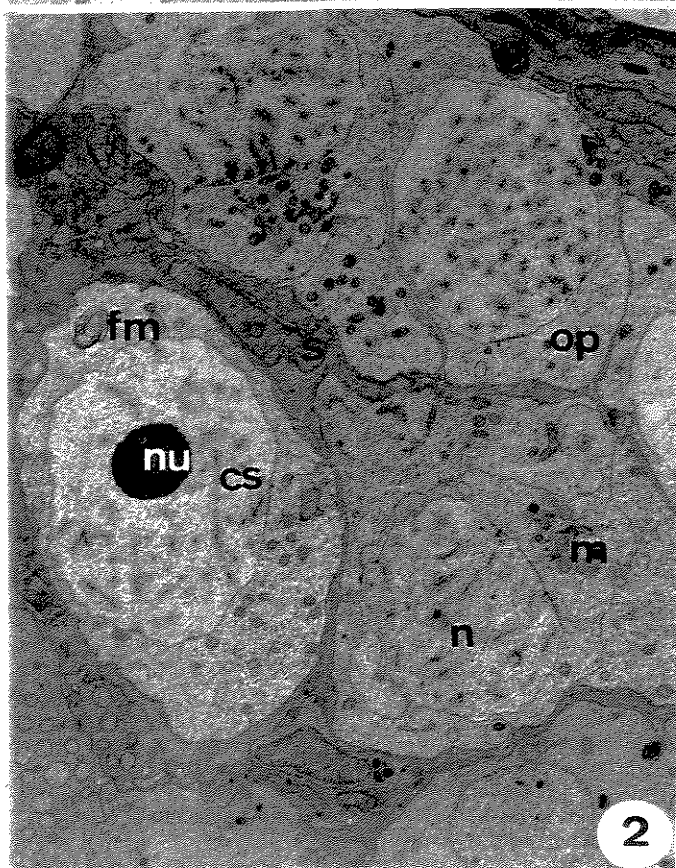
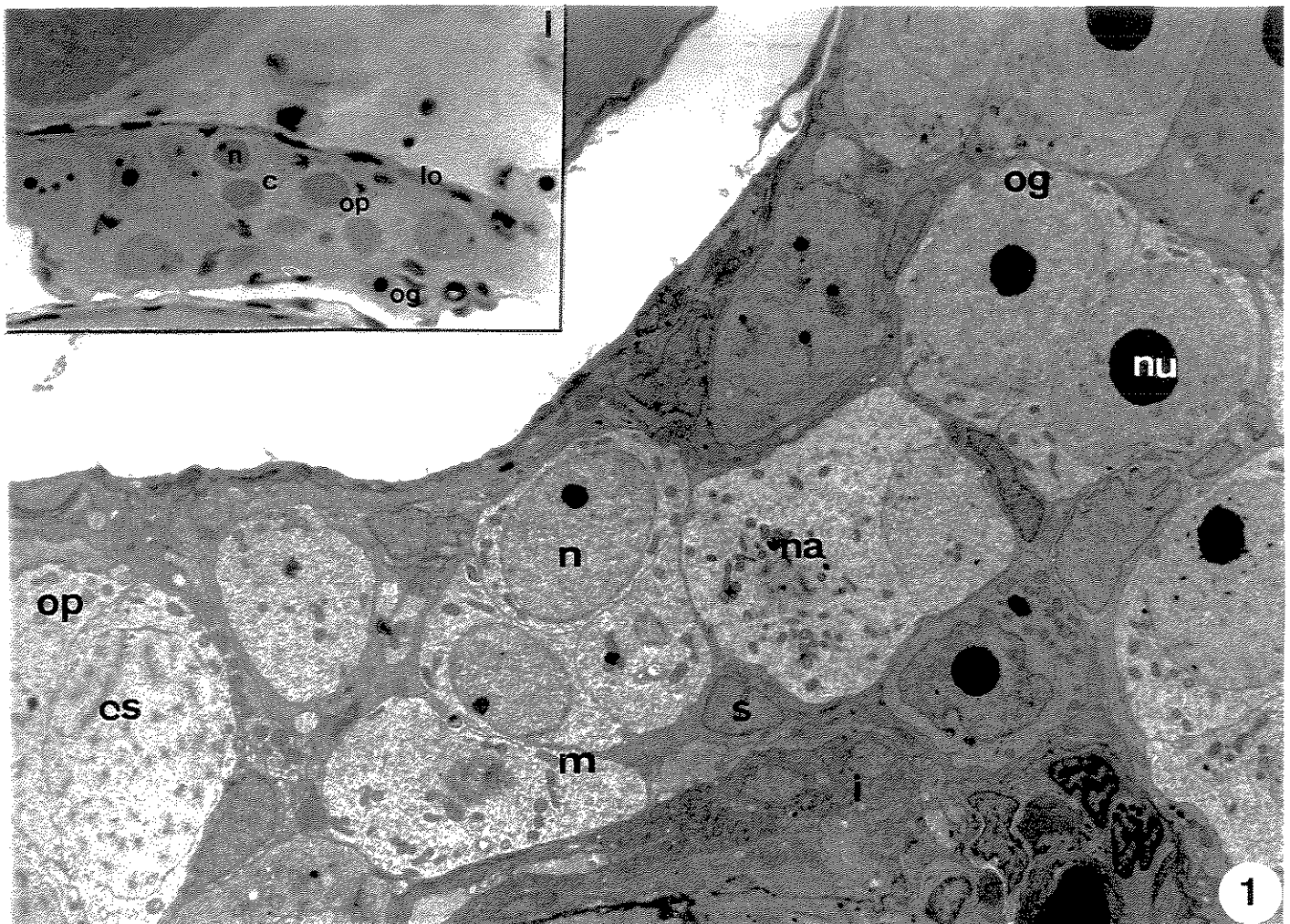
- TOURY, R., CLÉROT, J. C., ANDRÉ, J. Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens Cyprinides. IV. Analyse biochimique des constituants du "ciment" intermitochondrial isolé. Biol Cell, v. 30, p. 225-32, 1977.
- TYLER, C. R., SUMPTER, J. P. Oocyte growth and development in teleosts. Rev. Fish Biol. Fresheries, v. 6, p. 287-318, 1996.
- ULRICH, E. Étude des ultrastructures au cours de l'ovogenèse d'un poisson téléostéen, le *Danio Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan). J. Microsc., v. 8, p. 447-78, 1969.
- VARI, R. P., MALABARBA, L. R. Neotropical ichthyology: An overview. In: Phylogeny and classification of neotropical fishes. MALABARBA, L. R., REIS, R. E., VARI, R. P., LUCENA, Z. M. S., LUCENA, C. A. (Eds). Porto Alegre: EDIPUCRS. 1998, p. 1-11.
- VAZZOLER, A. E. A. M., MENEZES, N. A. Síntese do conhecimento sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysi). Rev. Bras. Biol., v. 52, p. 627-40, 1992.
- WALLACE, R.A. Vitellogenesis and Oocyte Growth in Nonmammalian Vertebrates. In: Developmental Biology. BROWDER, L. W. New York: Plenum Press. 1985. v. 1, p. 127-77.
- WALLACE, R.A., SELLMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Sci. Zool., v. 21 p. 325-43, 1981.

- WEST, G. Methods of assessing ovarian development in fish: a review. Aust. J. Mar. Freshwater Res., v. 41, p. 199-222, 1990.
- WOURMS, J. P. Annual fish oogenesis. I. Differentiation of the matureoocyte and formation of the primary envelop. Dev. Biol., v. 50, p. 335-54, 1976.
- YAMAMOTO, M. Electron microscopy of fish development. II. Oocyte follicle cell relationship and formation of chorion in *Oryzias latipes*. J. Fac. Sci. Univ. Tokio, Sect IV - Zool., v. 10, p. 123-6, 1963.
- YAMAMOTO, M. Electron microscopy of fish development. III. Changes in the ultrastructure of the nucleus and cytoplasm of the oocyte during its development in *Oryzias latipes*. J. Fac. Sci. Univ. Tokio, Sect IV - Zool., v. 10, p. 335-46, 1964.

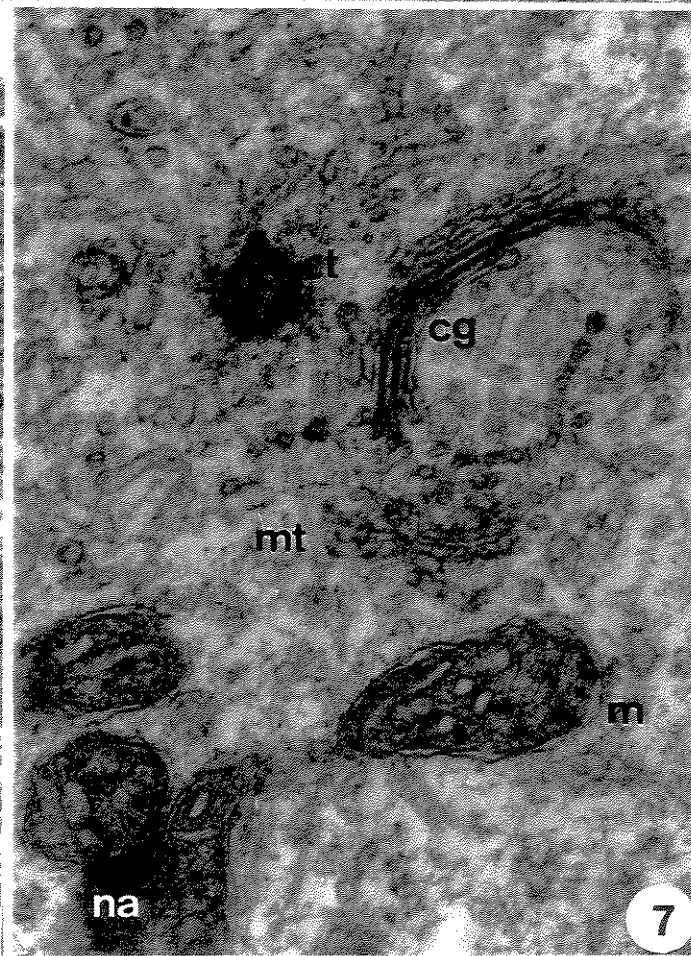
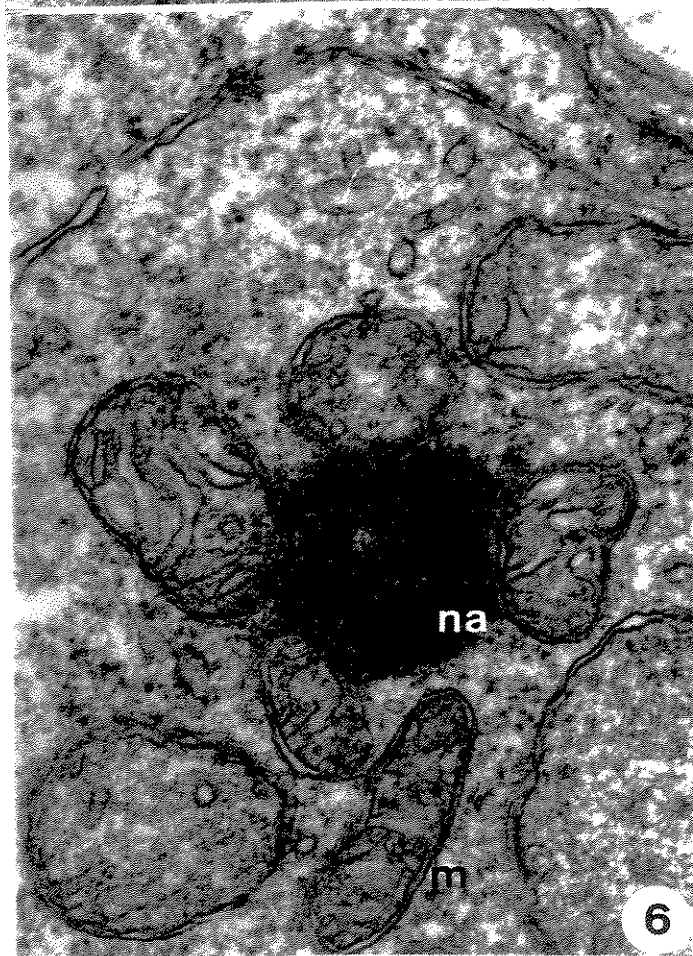
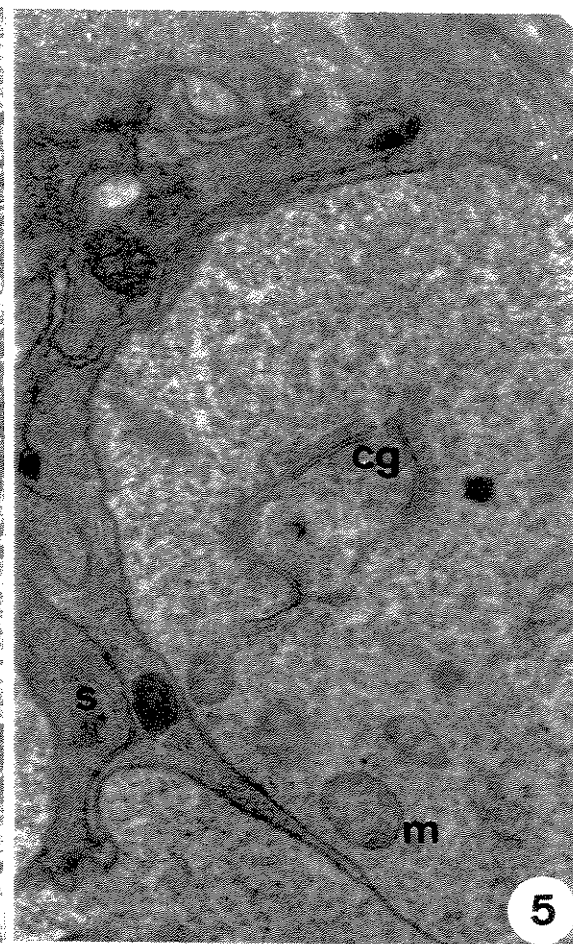
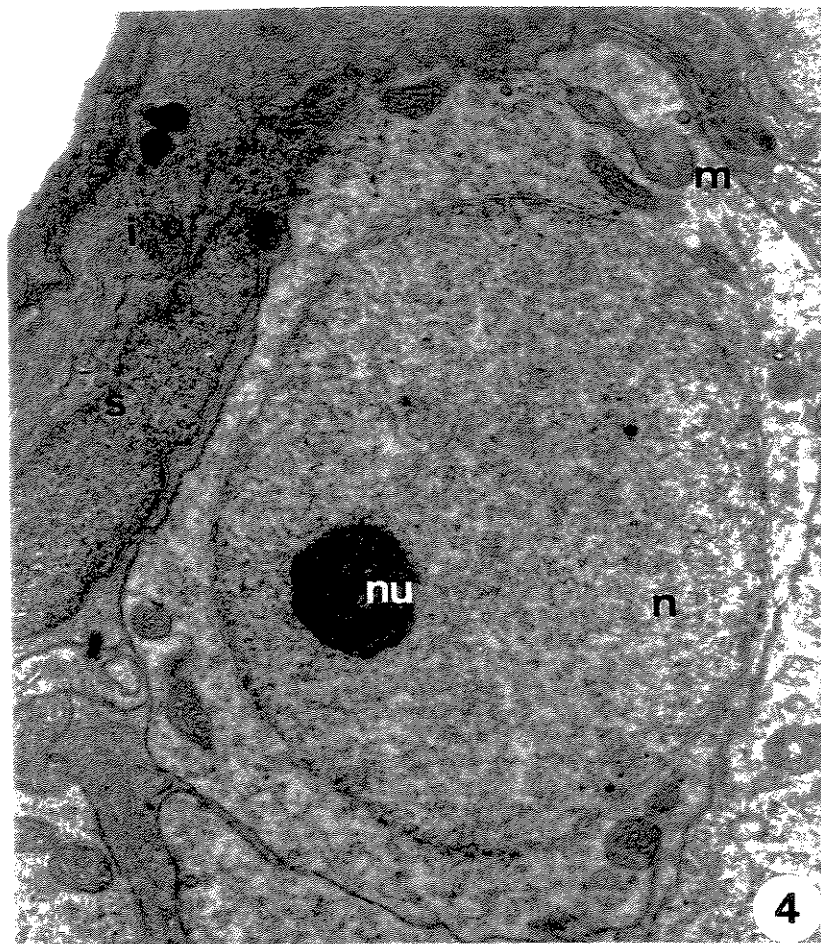
Abreviaturas

ac	alvéolo cortical	mt	microtúbulo
acp	precursor do alvéolo cortical	mv	microvilosidade
c	citoplasma	n	núcleo
cg	complexo de Golgi	na	“nuages”
cl	colágeno	nu	nucléolo
cm	corpos multivesiculares	nua	nucléolo anelado
cn	canalícuo	o	oócito
cpe	célula produtora de esteróides	og	oogônia
cs	complexo sinaptonêmico	op	oócito primário inicial
ct	centríolo	p	poros nucleares
ef	envoltório folicular	re	retículo endoplasmático
ei	espaço intercelular	rer	retículo endoplasmático granular
ep	epitélio pavimentoso	s	célula somática pré-folicular
en	envoltório nuclear	sa	substância amorfa
f	célula folicular	t	teca
fb	fibroblasto	ta	túnica albugínea
fm	figura mielínica	vc	vesícula clara
ge	granulações elétron-densas	vn	vesícula não elétron-densa
gv	grânulo de vitelo	vd	vesícula elétron-densa
h	hemácia	vs	vaso sanguíneo
i	interstício	vt	vesícula de vitelo
la	“lamellae anulata”	zr	zona radiata
lb	lâmina basal	zrl	camada externa da zr
lo	lamela ovígera	zrll	camada média da zr
m	mitocôndria	zrlll	camada interna da zr

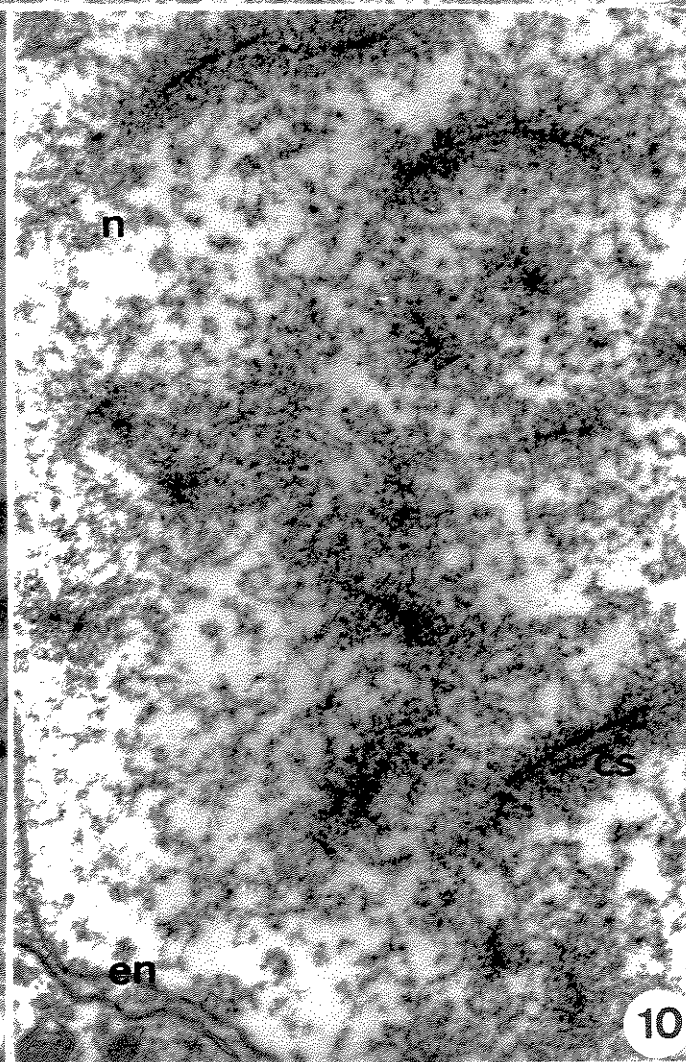
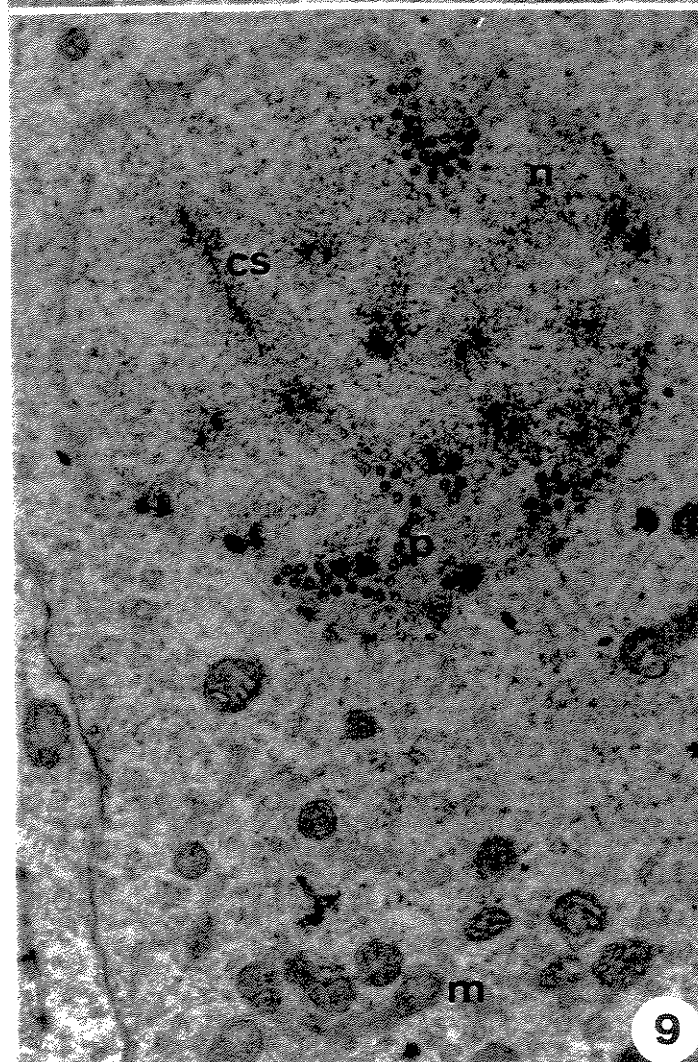
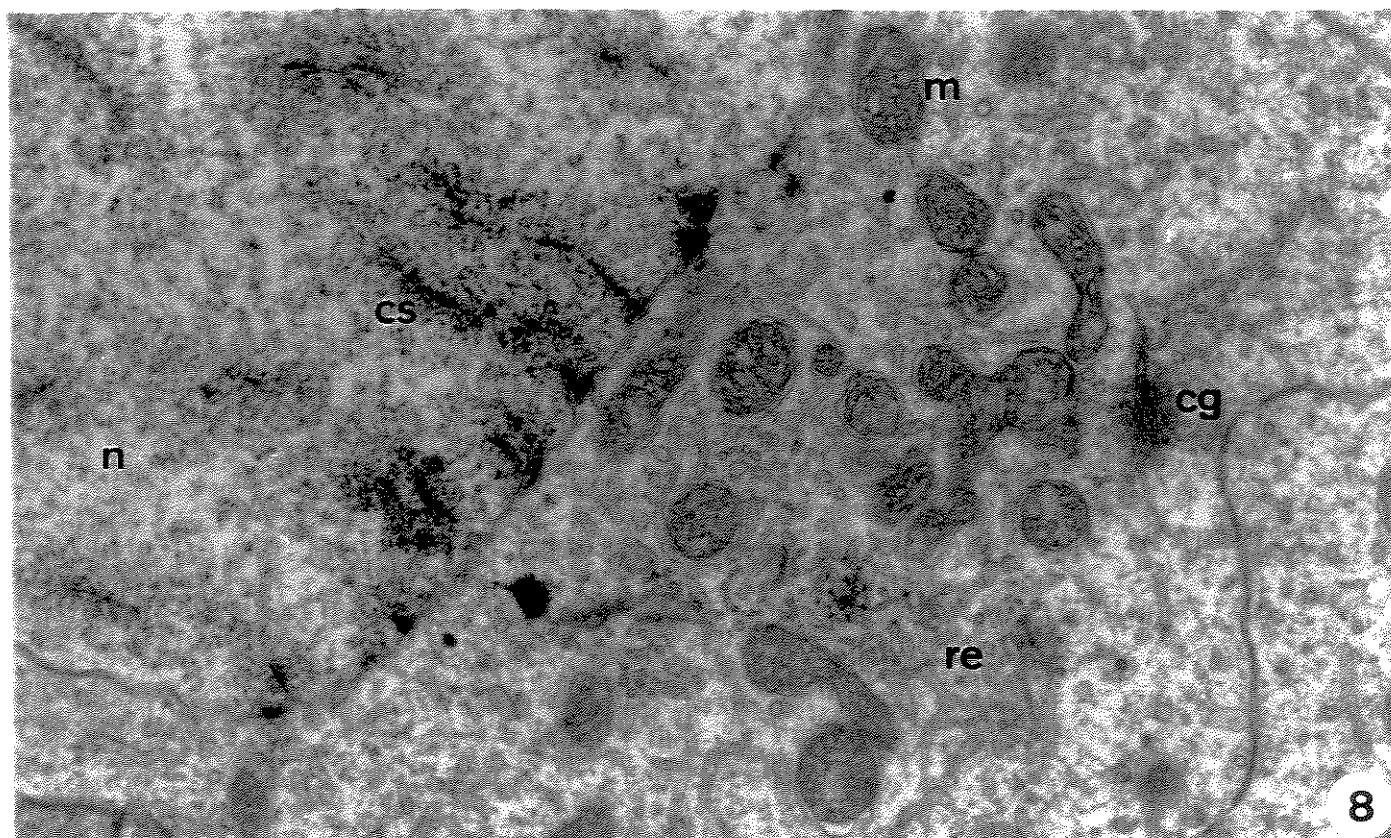
PRANCHA A – OOGÔNIAS E OÓCITOS PRIMÁRIOS INICIAIS – I – Detalhe – Ninho de oogônias e oócitos primários iniciais. x 900. 1 – Ninho contendo oogônias e oócitos primários iniciais. x 4400. 2 – Ninho contendo oócitos primários iniciais. x 3400. 3 – Ninho contendo oogônias. x 5750.



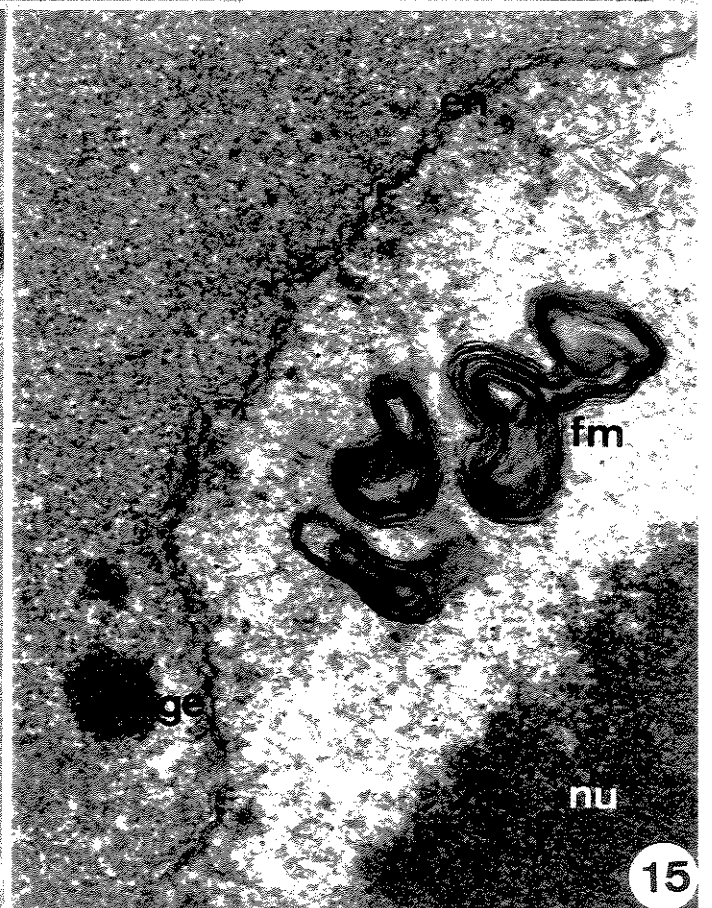
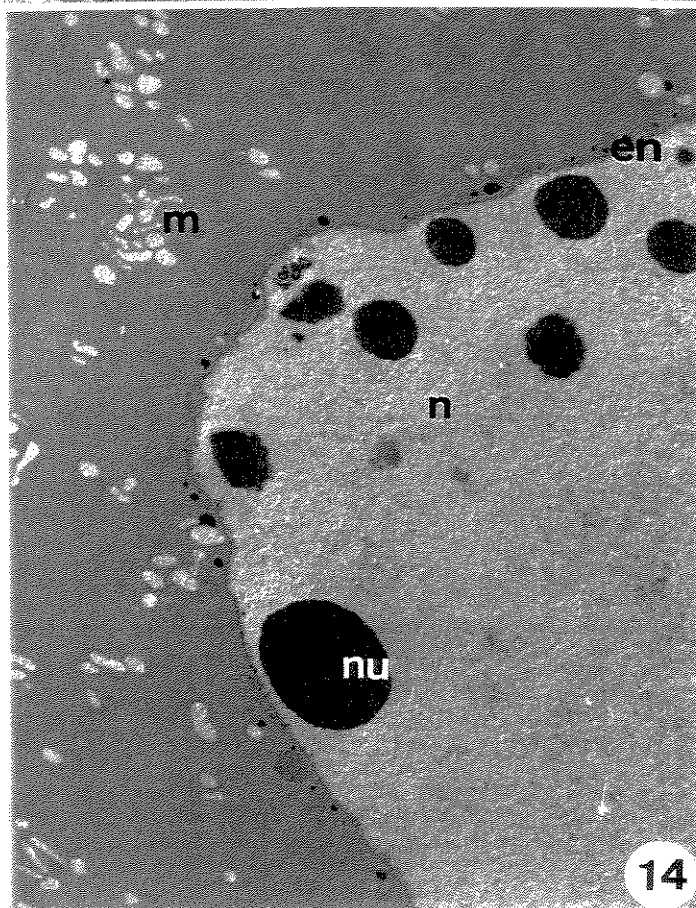
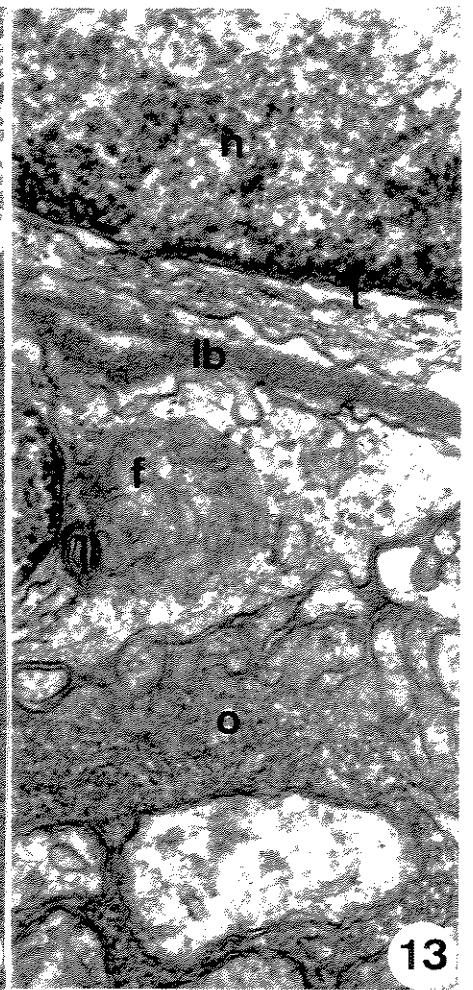
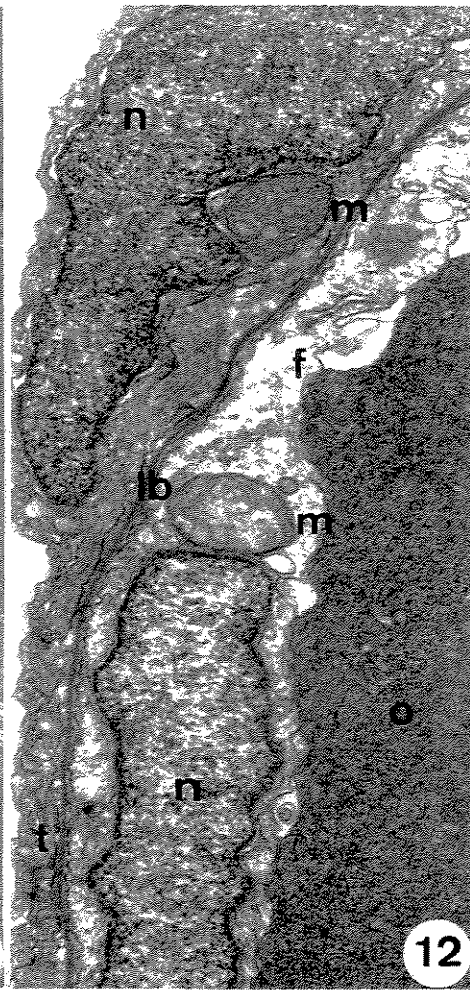
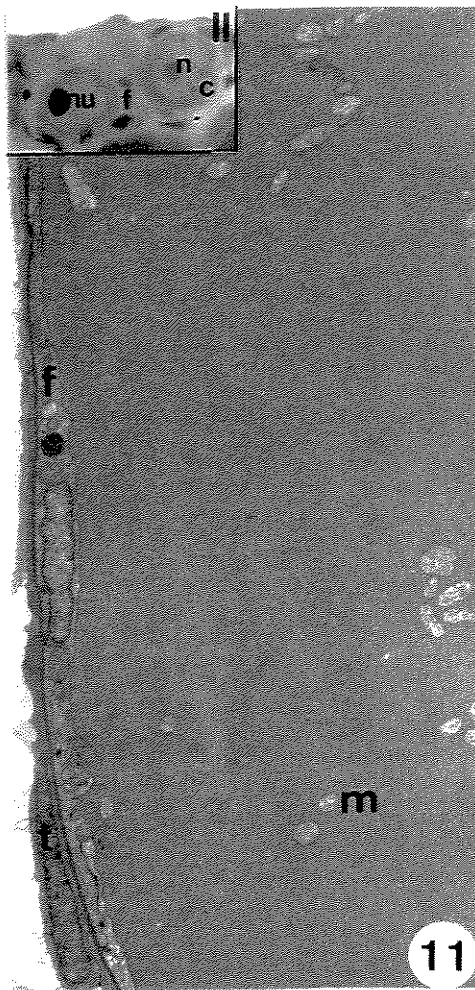
PRANCHA B – OOGÔNIAS. 4 – Oogônia. x 13250. 5 a 7 – Detalhe de região citoplasmática de oogônias. 5 – x 18700; 6 – x 36000; 7 – 50400.



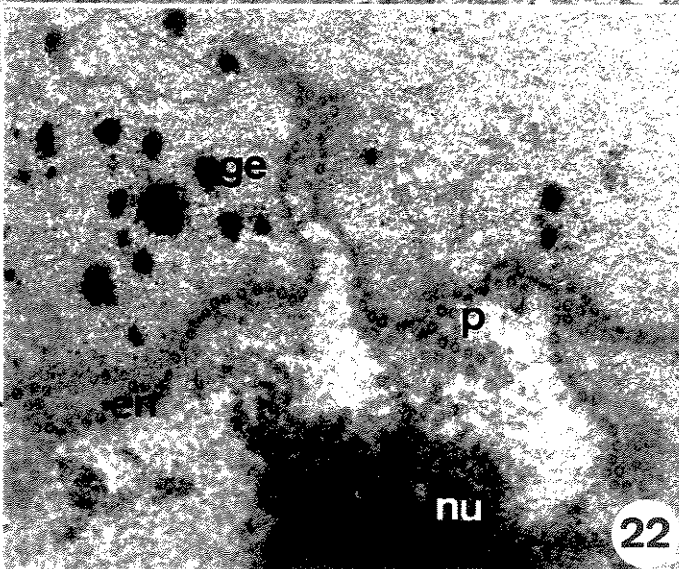
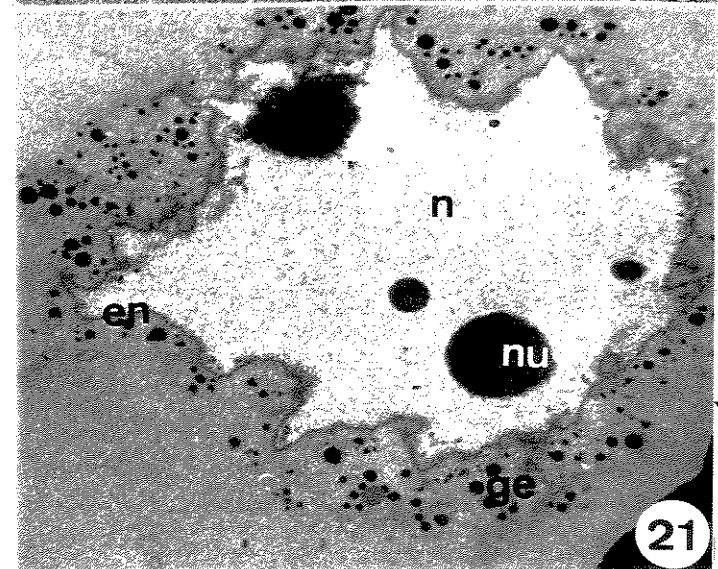
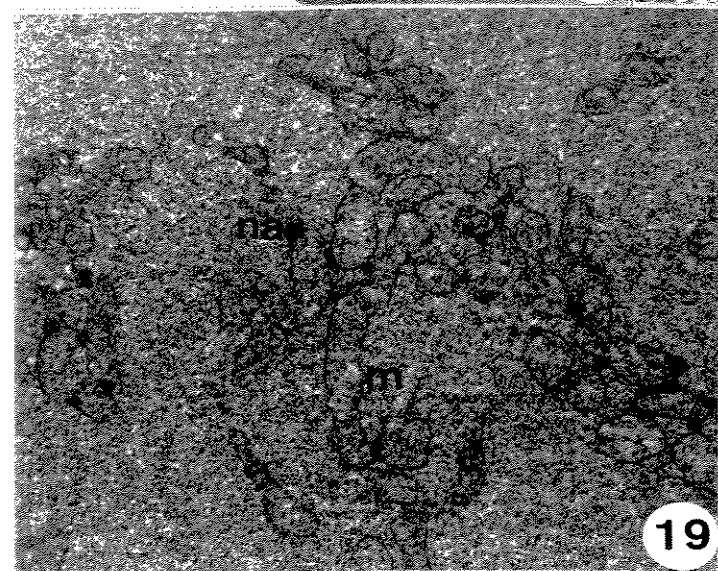
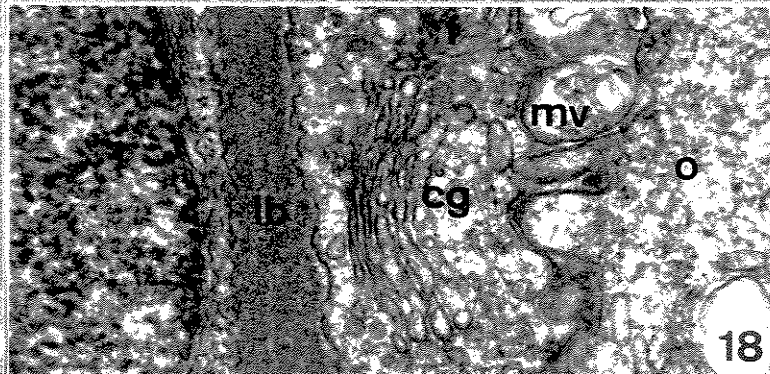
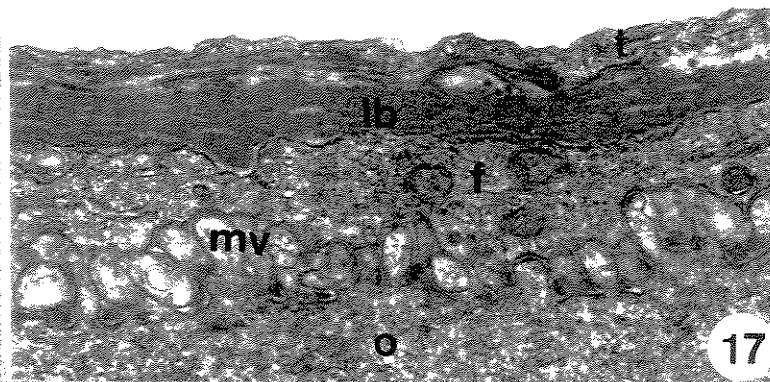
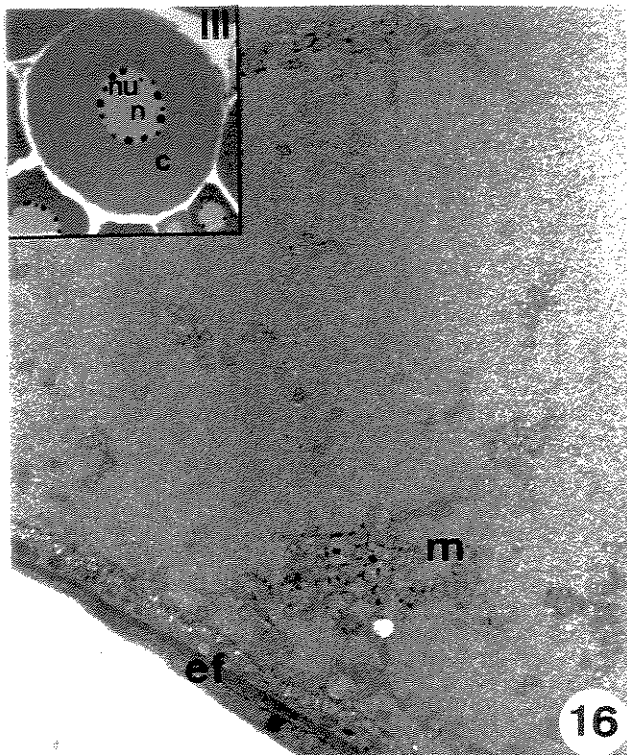
PRANCHA C – OÓCITOS PRIMÁRIOS INICIAIS. 8 – Região citoplasmática com porção do núcleo do oócito. x 23800. 9 – Detalhe do núcleo e de região citoplasmática do oócito. x 14700. 10 – Detalhes de região do núcleo do oócito contendo complexos sinaptonêmicos em formação. x 22000.



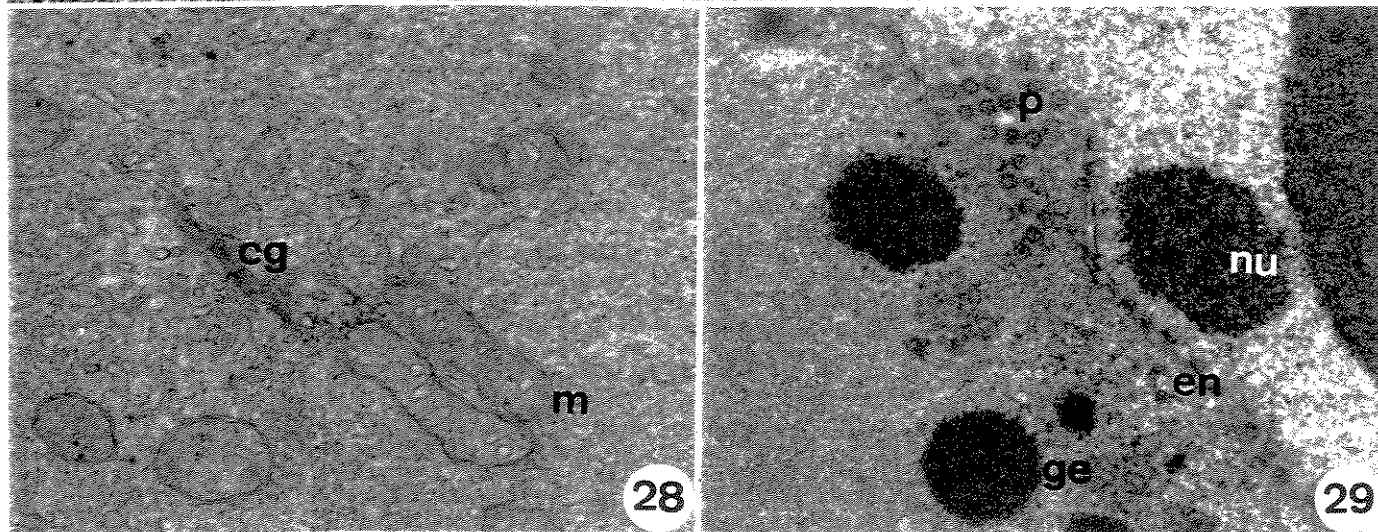
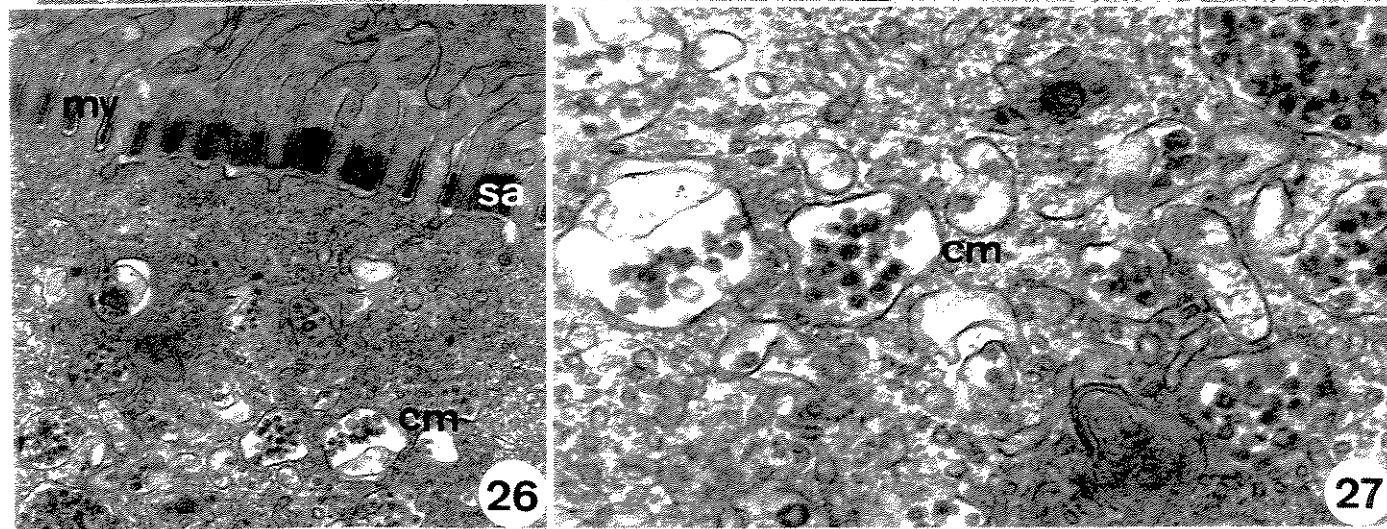
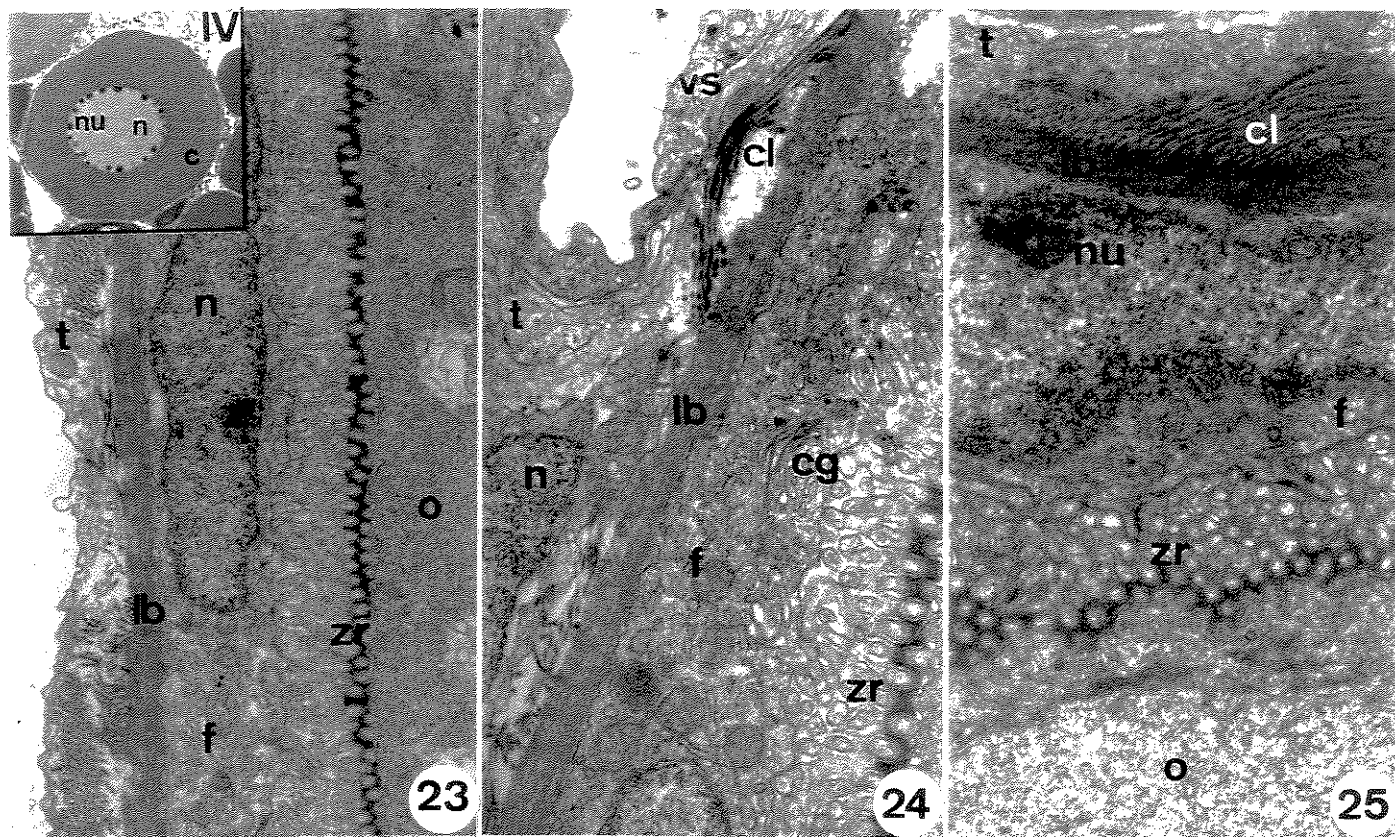
PRANCHA D - OÓCITO PRÉ-VITELOGÊNICO. II - Detalhe - Ninho contendo oócitos pré-vitelogênicos. x 375. 11 - Região citoplasmática periférica. x 6000. 12 - Região do envoltório folicular. x 21000. 13 - Detalhe de célula folicular, lâmina basal e teca. x 50000. 14 - Região citoplasmática do oócito próxima ao núcleo. x 5000. 15 - Detalhe de porção nuclear do oócito com parte do nucléolo e figuras mielínicas. x 45000.



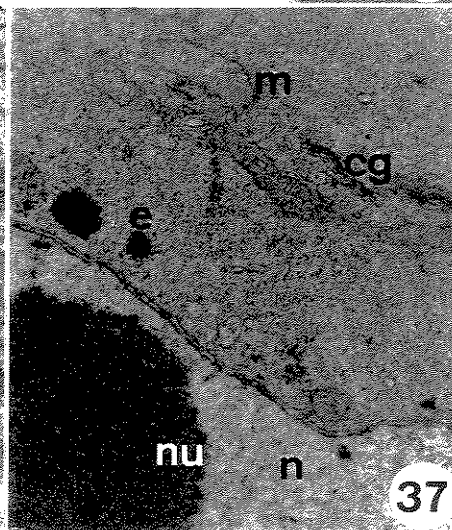
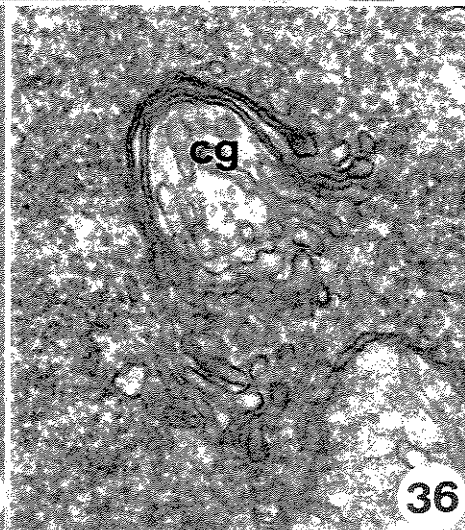
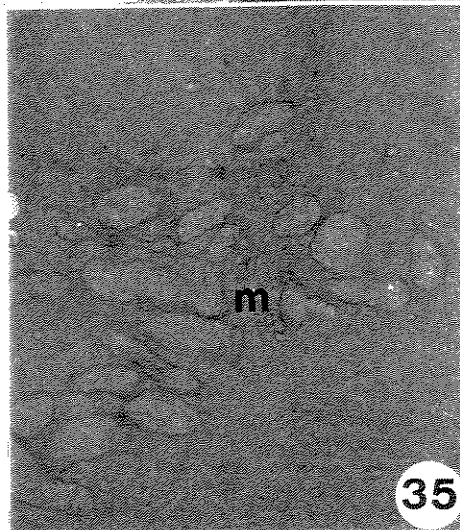
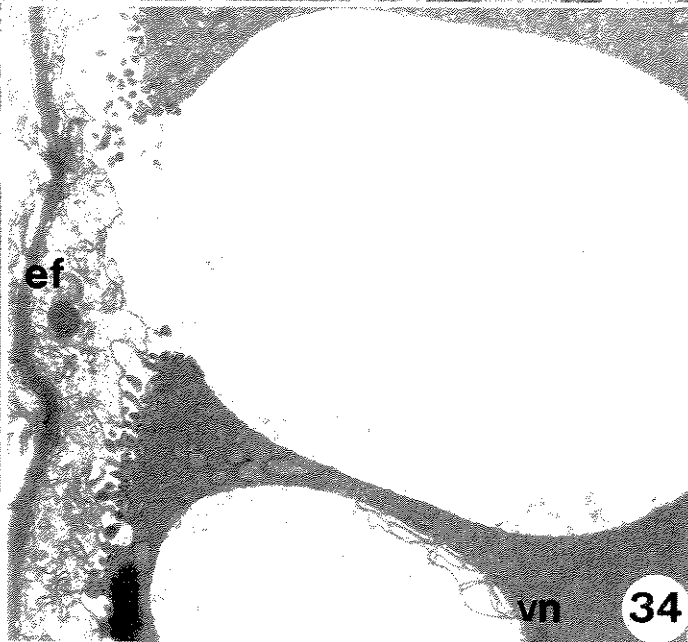
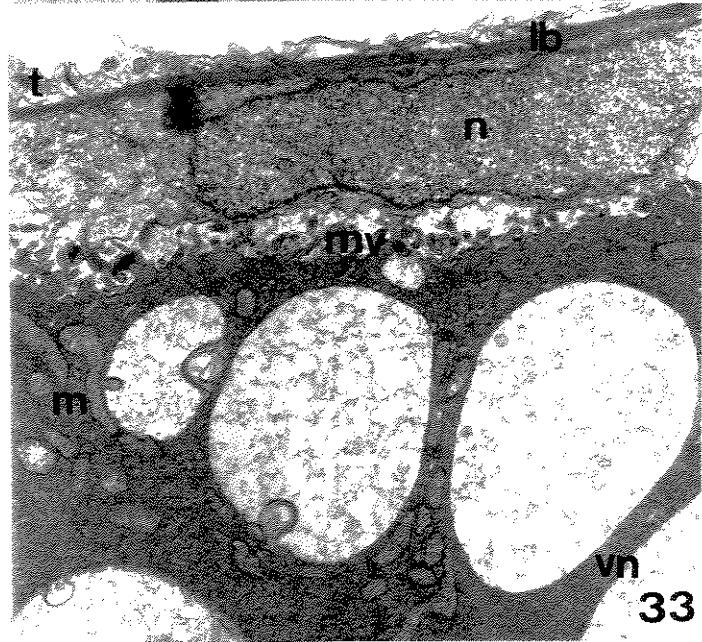
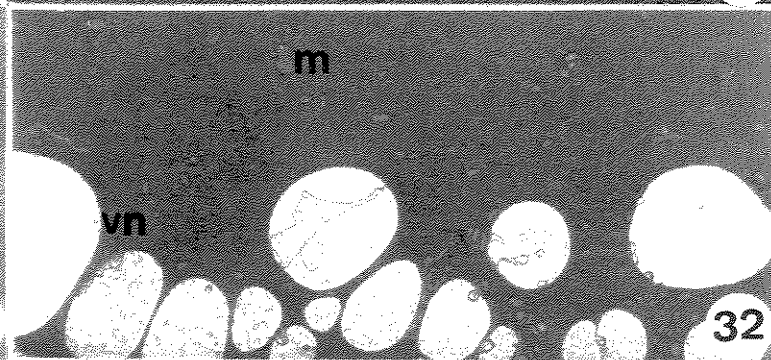
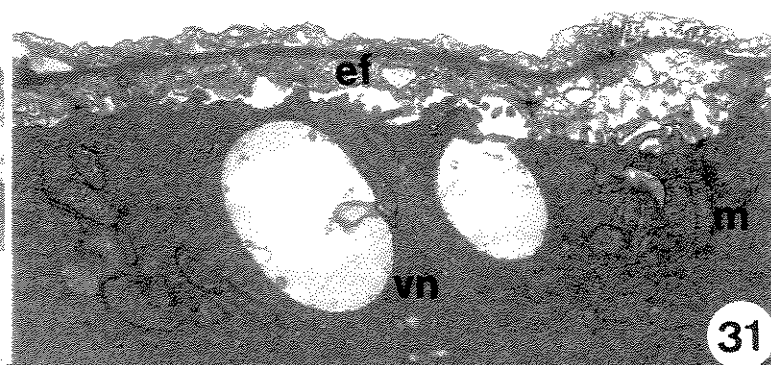
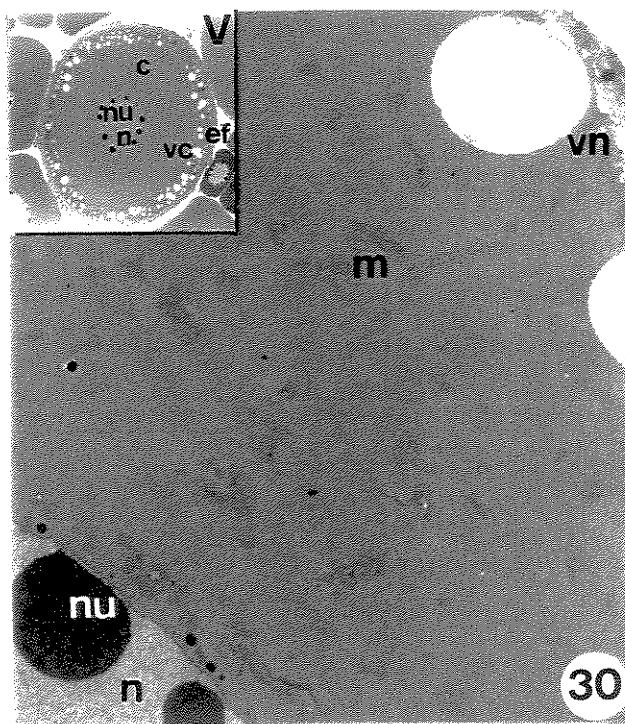
PRANCHA E – OÓCITO PRÉ-VITELOGÊNICO. III – Detalhe – Oócito pré-vitelogênico. x 120. 16 – Região citoplasmática periférica do oócito com zona radiata em formação, células foliculares e teca. x 5200. 17 e 18 – Detalhe do envoltório folicular. 17 – x 27500; 18 – x 52000. 19 e 20 – Detalhe de organelas citoplasmáticas do oócito. 19 – x 15960; 20 – 38000. 21 e 22 – Região do núcleo do oócito. 21 – x 5200; 22 – 18200.



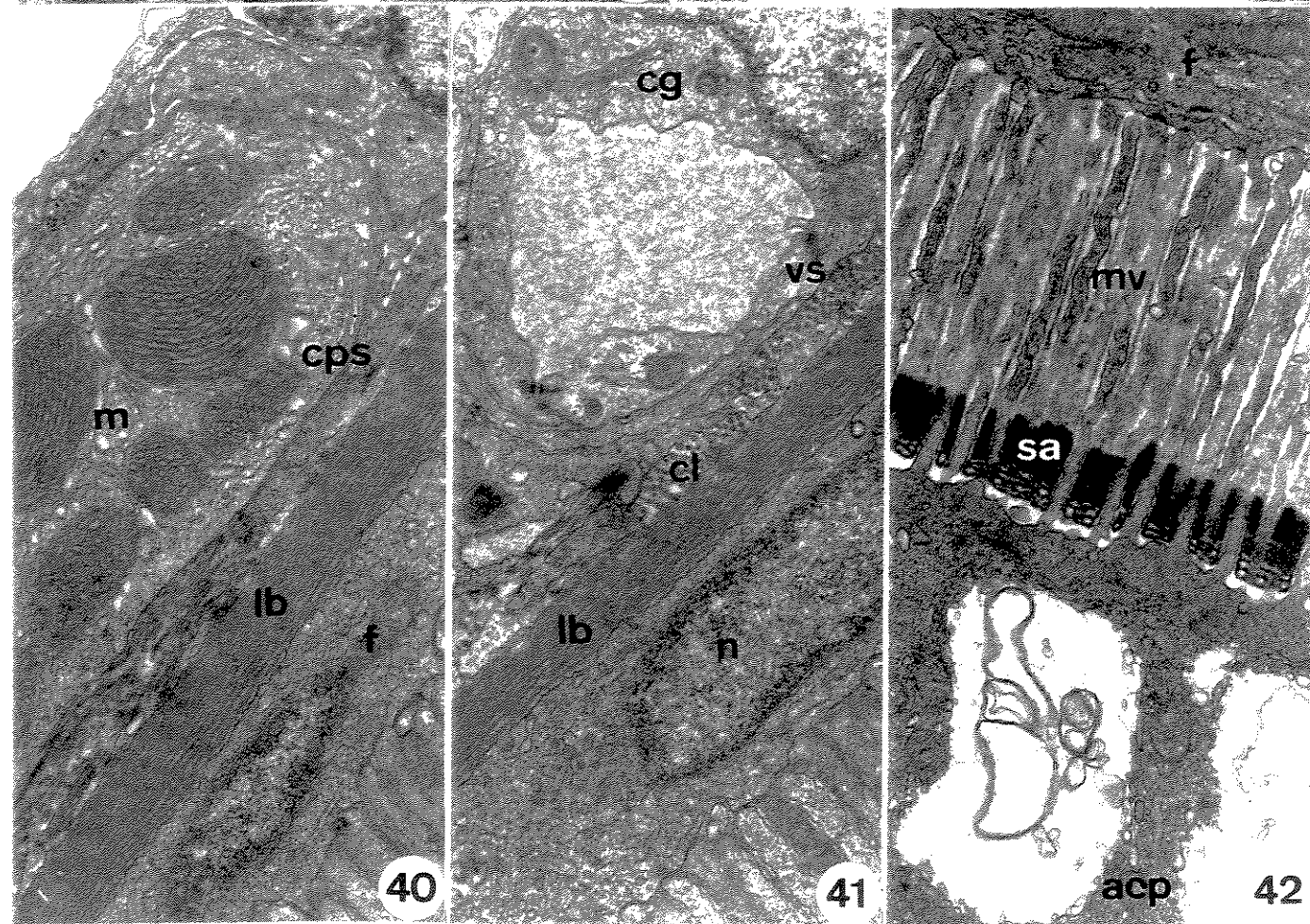
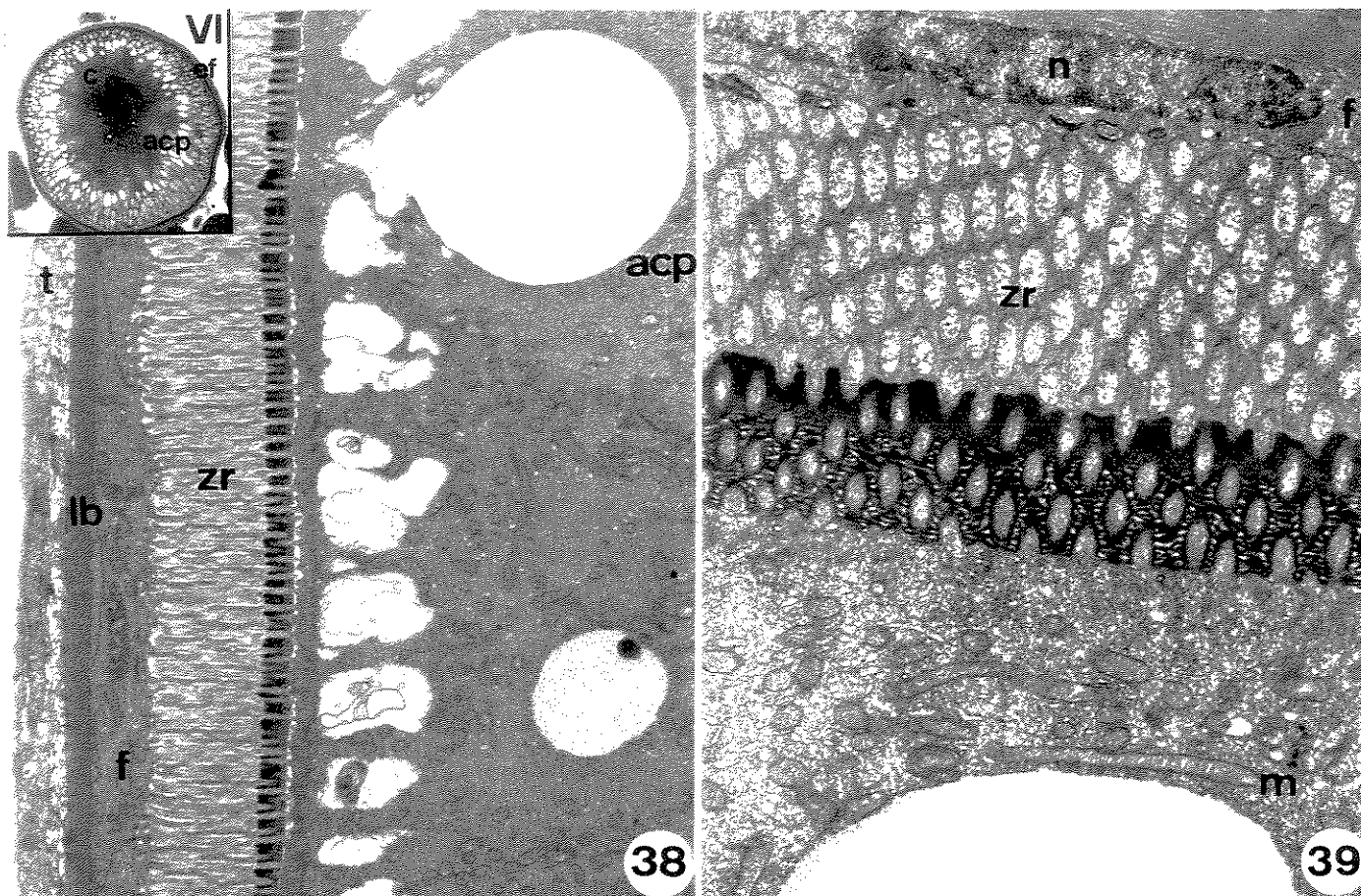
PRANCHA F – OÓCITO PRÉ-VITELOGÊNICO. IV – Detalhe – Oócito pré-vitelogênico. x 160. 23 a 25 – Região do envoltório folicular e zona radiata. 23 – x 13000; 24 – x 21450; 25 – x 18550. 26 – Região citoplasmática periférica do oócito contendo corpos multivesiculares. x 16500. 27 – Detalhe de corpos multivesiculares. x 60000. 28 – Detalhe de organelas citoplasmáticas do oócito. x 33000. 29 – Detalhe do núcleo, com poros em corte transversal. x 26000.



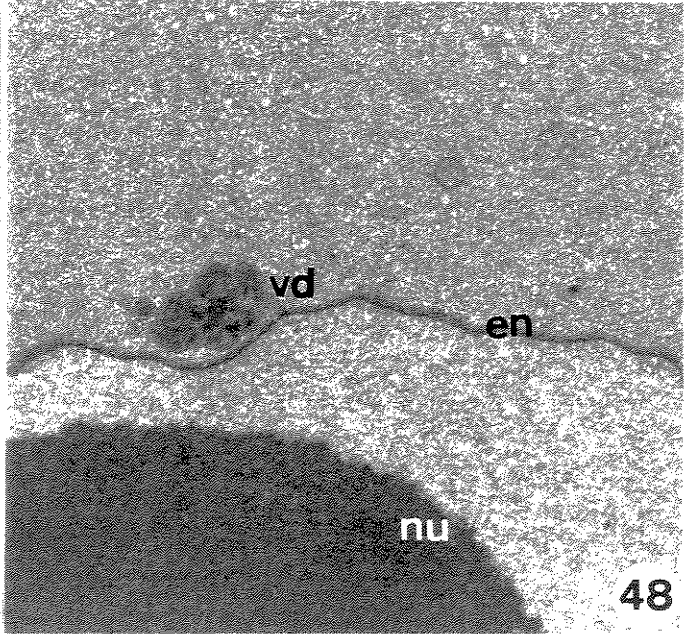
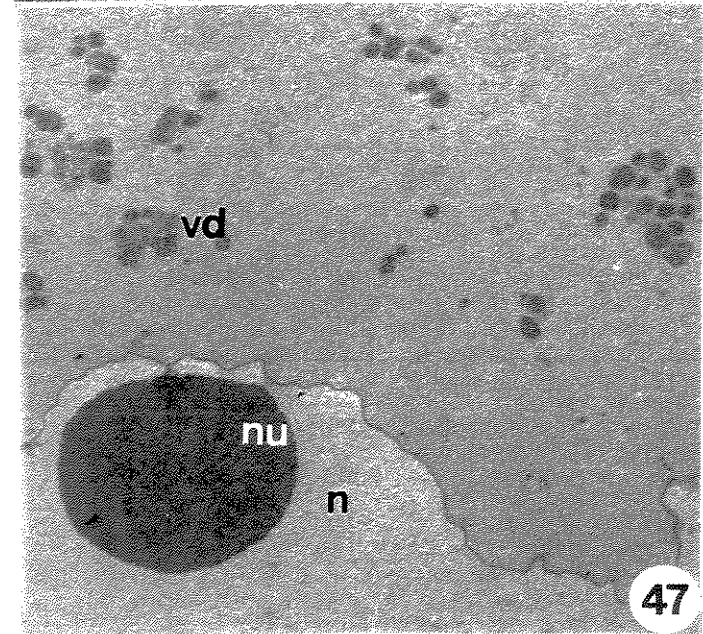
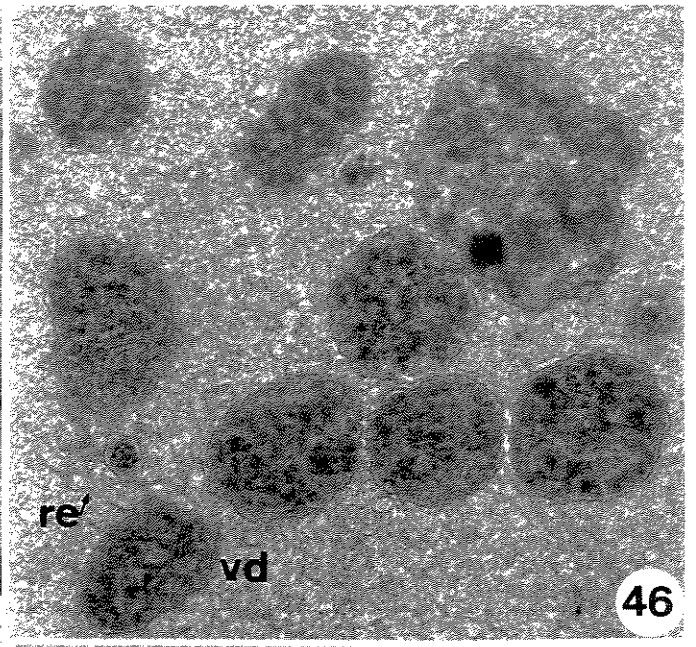
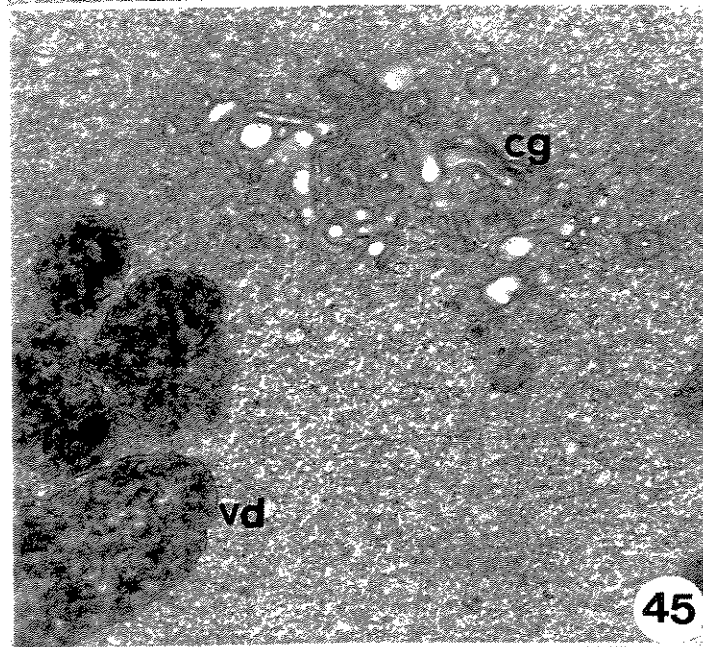
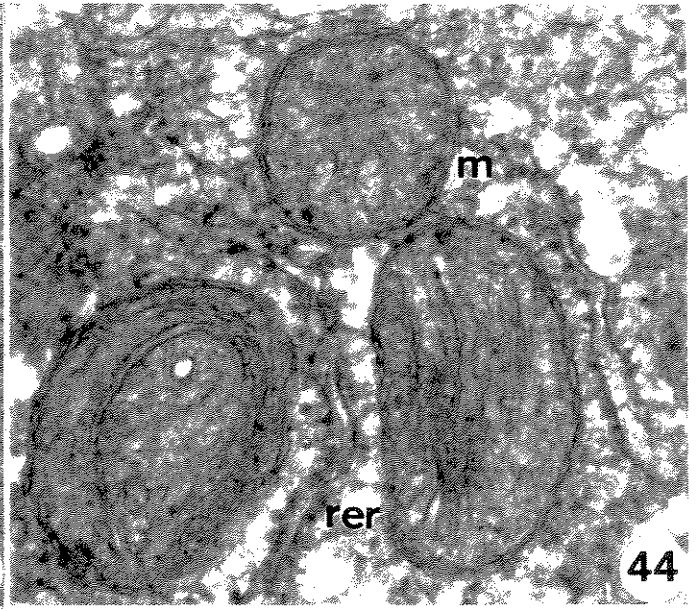
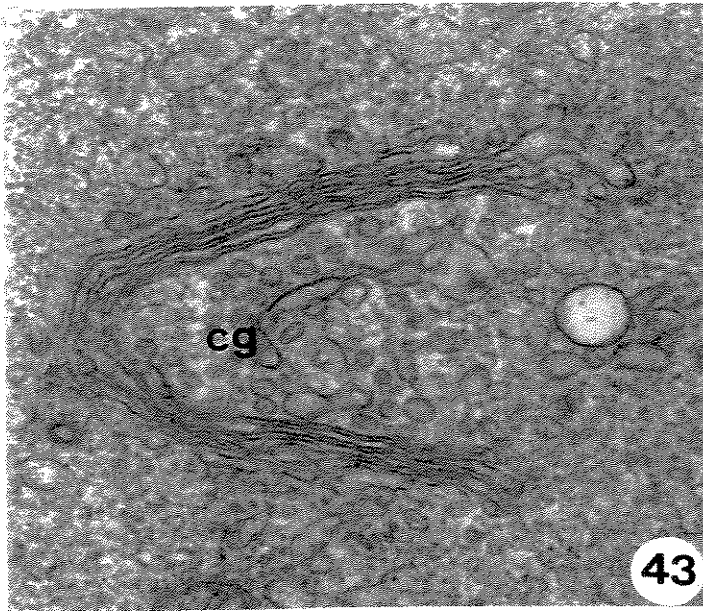
PRANCHA G – OÓCITO PRÉ–VITELOGÊNICO. V – Detalhe – Oócito pré–vitelogênico com vesículas não coradas pelo HE, possivelmente correspondentes às vesículas não elétron–densas. x 400. 30 – Região do oócito, desde o núcleo até a região do envoltório folicular. x 4200. 31 a 34 – Região citoplasmática cortical do oócito, mostrando vesículas não elétron–densas e envoltório folicular. 31 – x 13000; 32 – x 4500; 33 – 13200; 34 – 12550. 35 e 36 – Detalhe de organelas citoplasmáticas do oócito. 35 – x 14600; 36 – 65000. 37 – Detalhe da região do núcleo do oócito. x 16800.



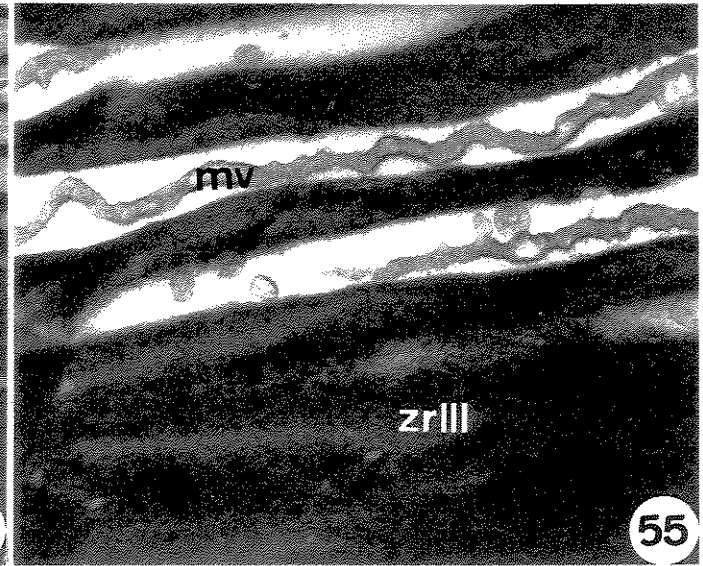
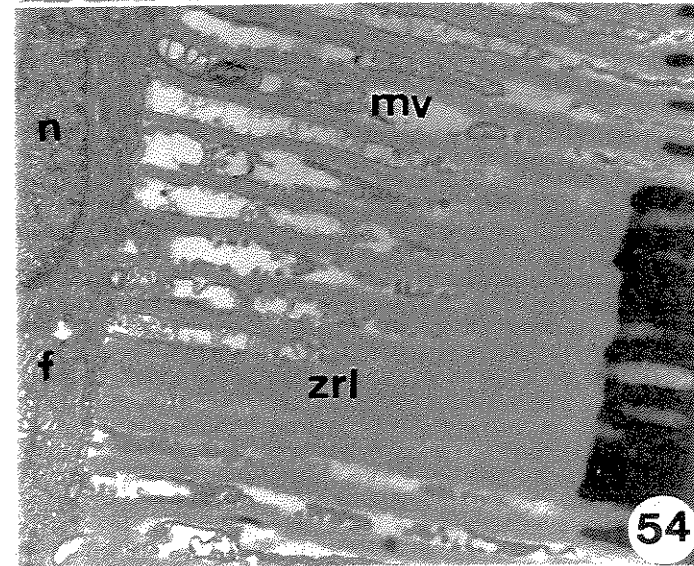
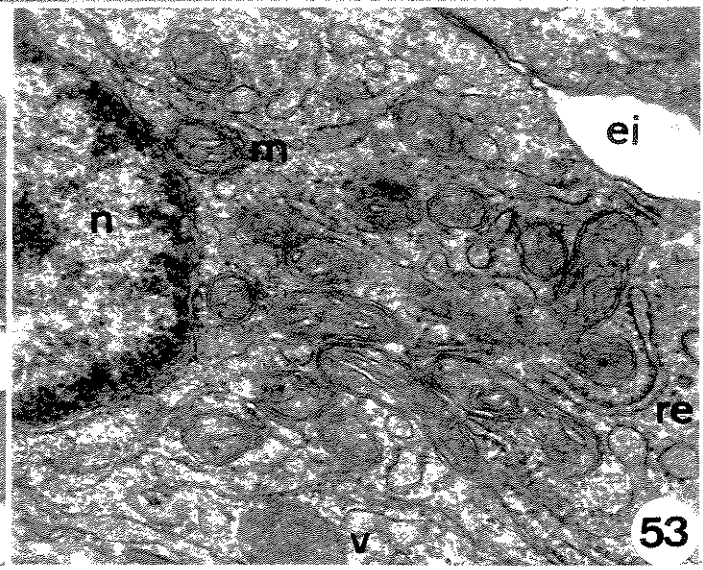
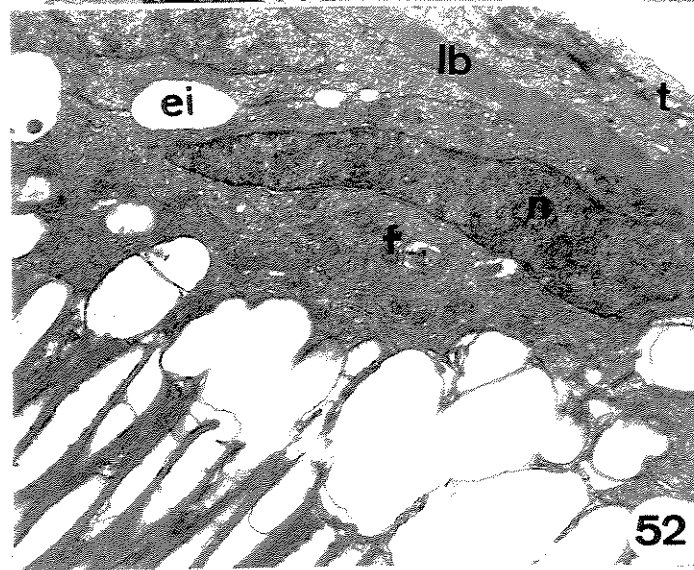
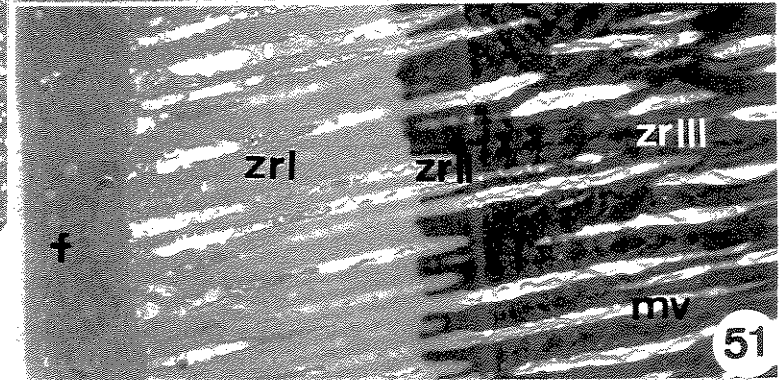
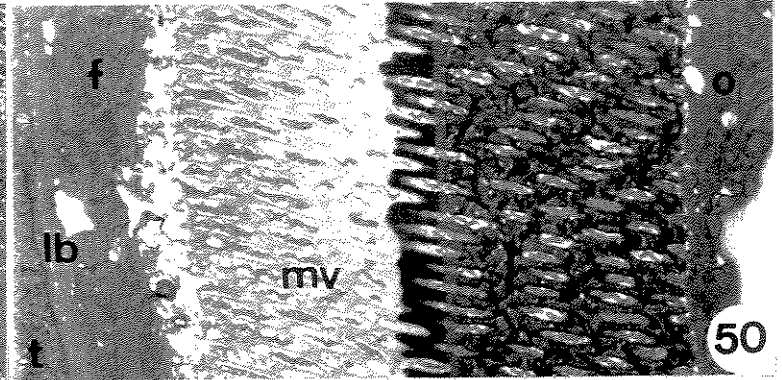
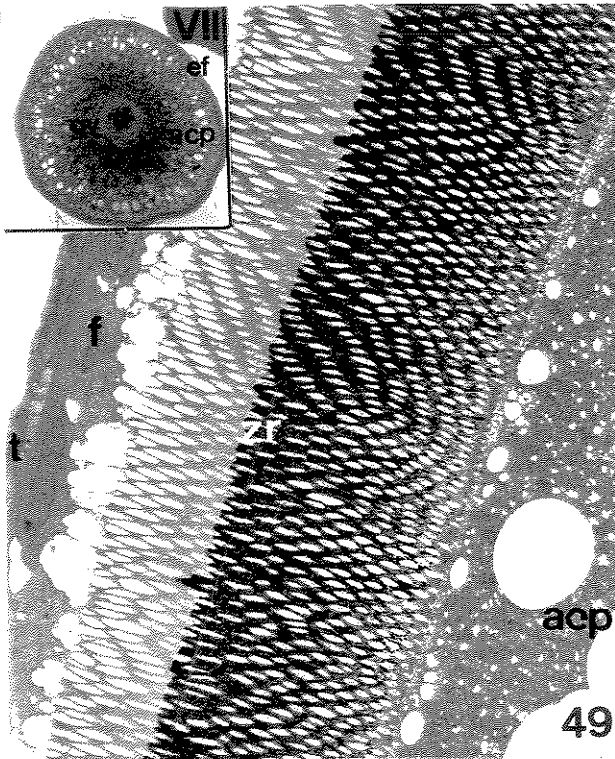
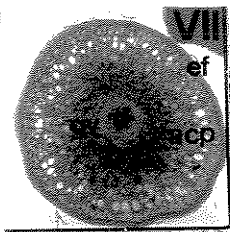
PRANCHA H - OÓCITO COM ALVÉOLOS CORTICAIS EM FORMAÇÃO. VI - Detalhe - Oócito com Alvéolos Corticais em Formação. x 250. 38 e 39 - Região citoplasmática periférica do oócito com zona radiata e envoltório folicular. 38 - x 7200; 39 - x 13500. 40 e 41 - Detalhe do envoltório folicular mostrando presença de célula produtora de esteróides e vaso sanguíneo entre as células da teca. 40 e 41 - x 23100. 42 - Detalhe da zona radiata e de região citoplasmática periférica do oócito com precursores dos alvéolos corticais. x 21000.



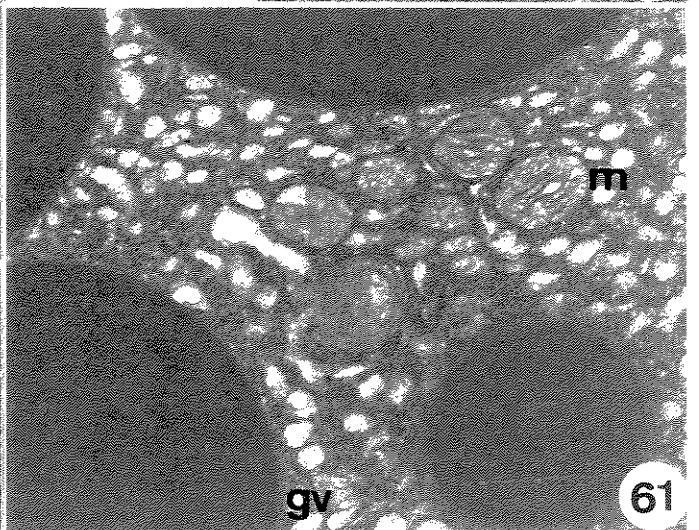
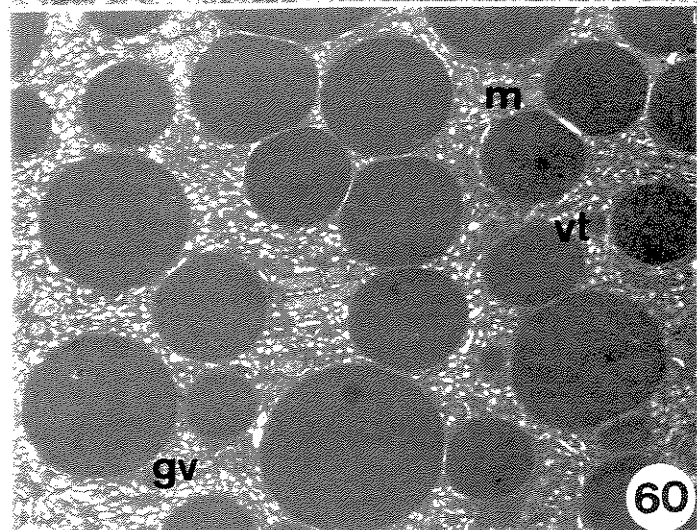
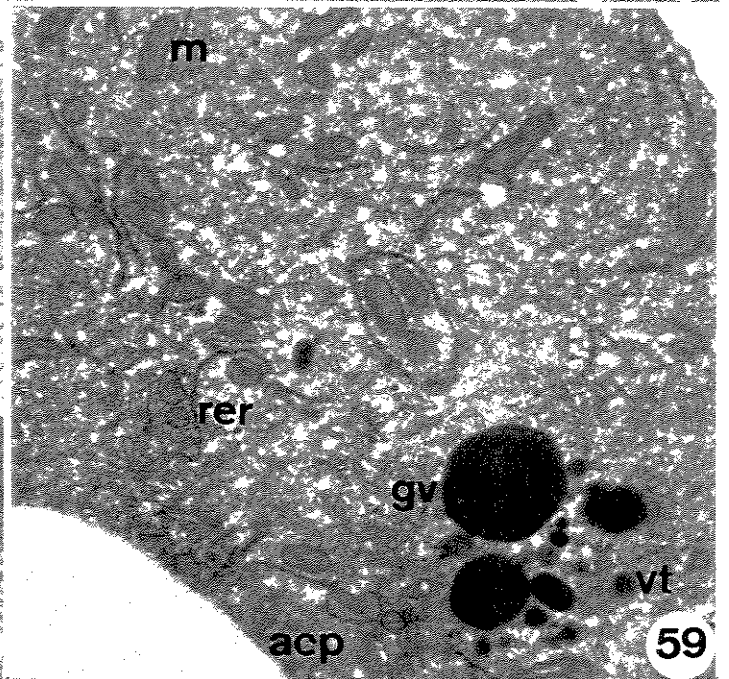
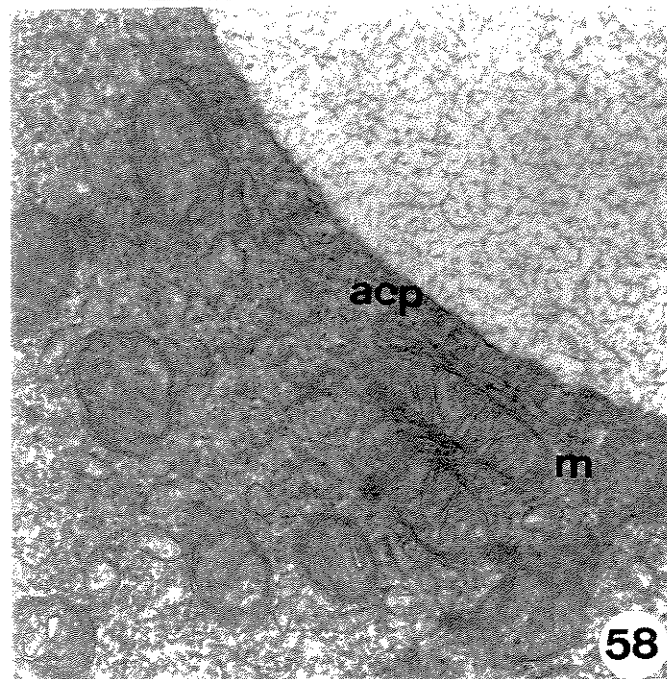
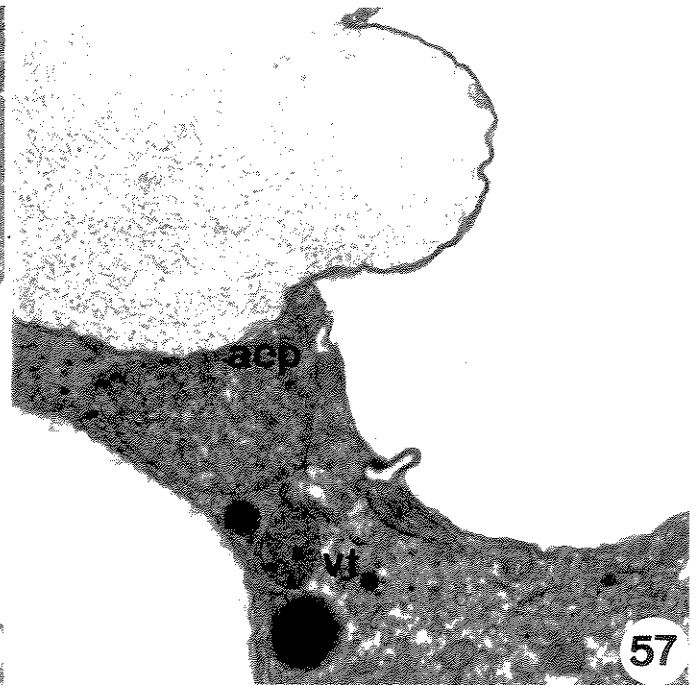
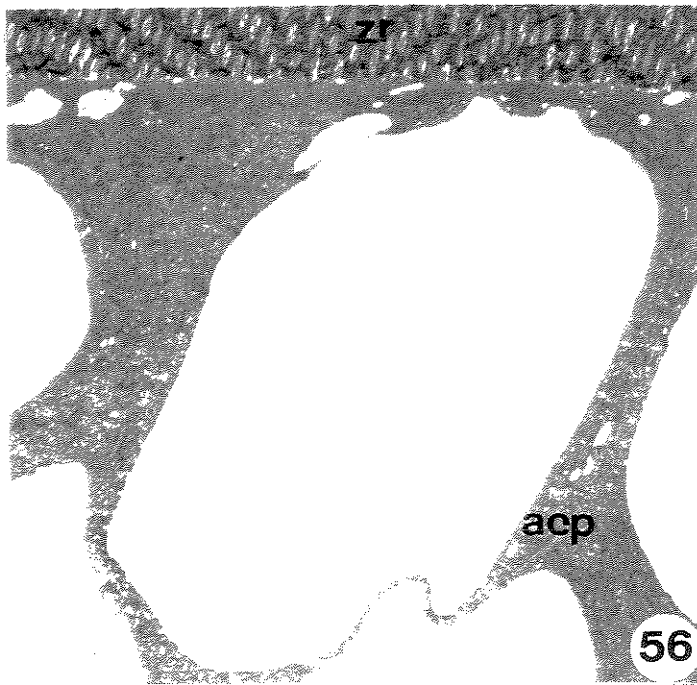
PRANCHA I – OÓCITOS COM ALVÉOLOS CORTICAIS EM FORMAÇÃO. 43 e 44 – Detalhe de organelas citoplasmáticas do oócito. 43 – x 50000; 44 – 71 500. 45 e 46 – Detalhe de região citoplasmática do oócito contendo vesículas elétrondensas. 45 – 22000; 46 – x 24750. 47 e 48 – Detalhe de região citoplasmática do oócito, próxima ao núcleo, contendo vesículas elétrondensas. 47 – x 3850; 48 – x 13200.



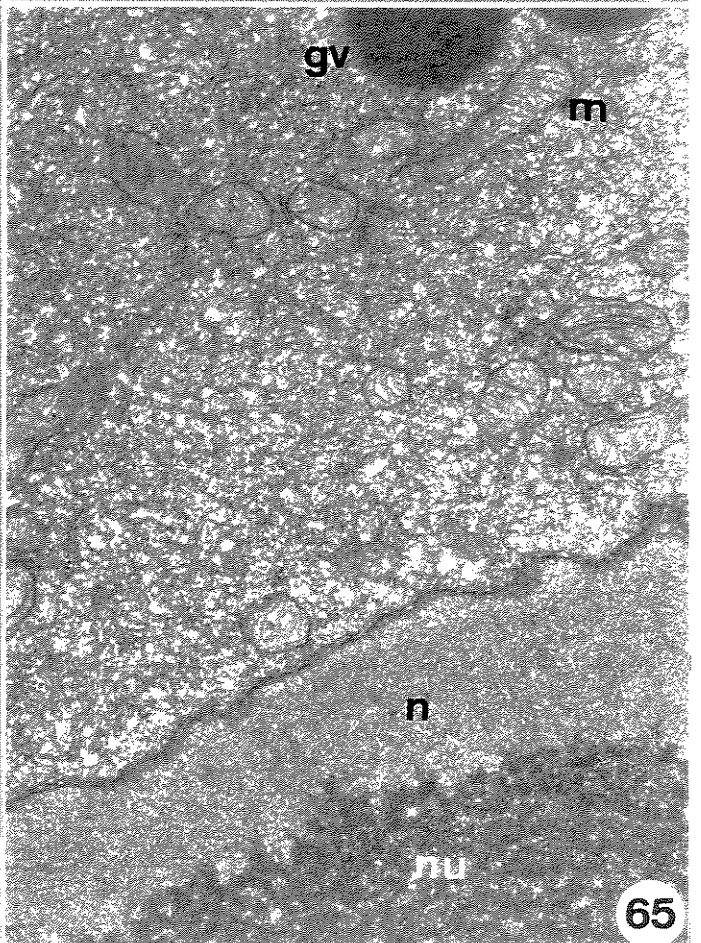
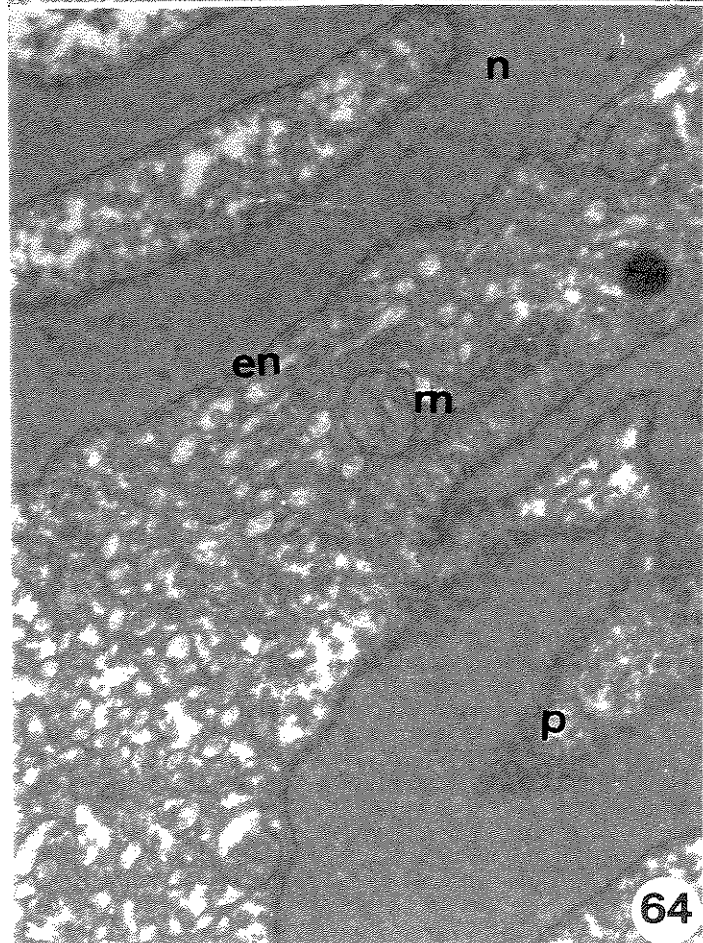
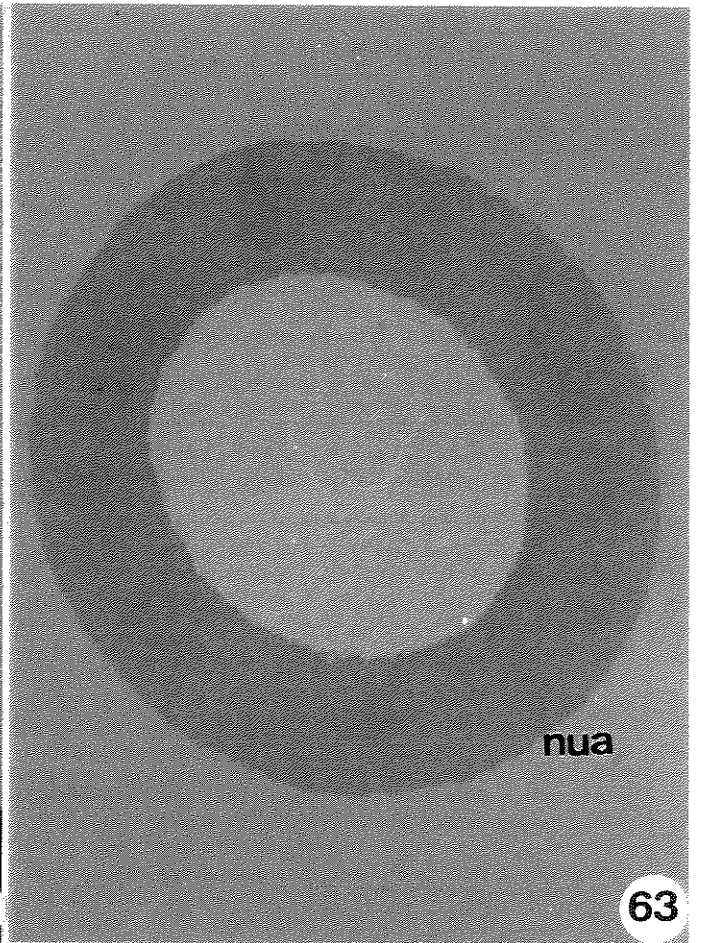
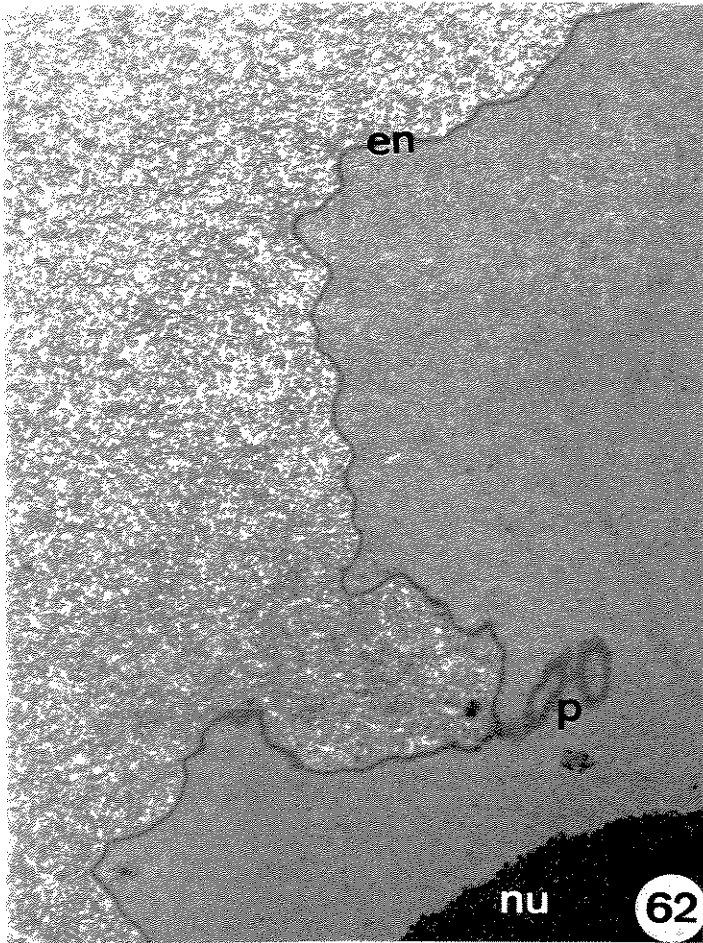
PRANCHA J – OÓCITO EM VITELOGÊNESE. VII – Detalhe – Oócito em Vitelogênese. x 136. 49 a 51 – Detalhe de região da zona radiata. 49 – x 2750; 50 – x 6500; 51 – x 8000. 52 e 53 – Detalhe de célula folicular. 52 – x 11500; 53 – x 38000. 54 e 55– Detalhe da zona radiata. 54 – x 10400; 55 – x 25200.



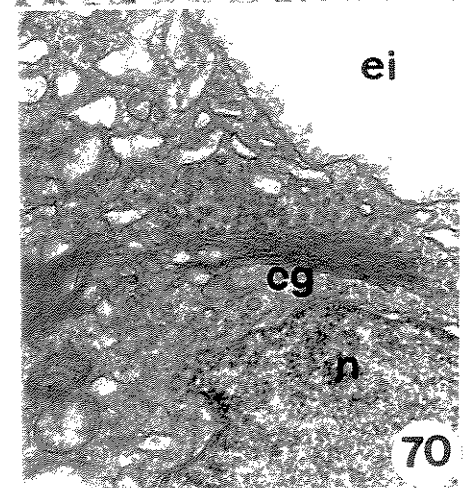
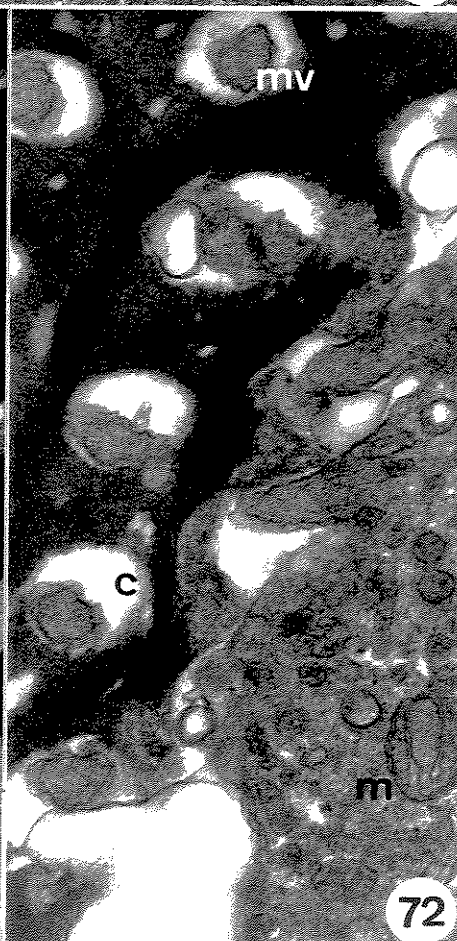
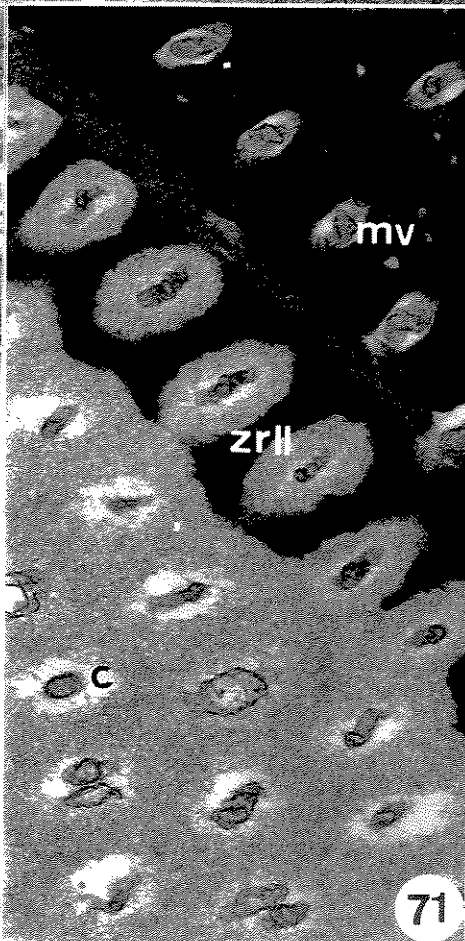
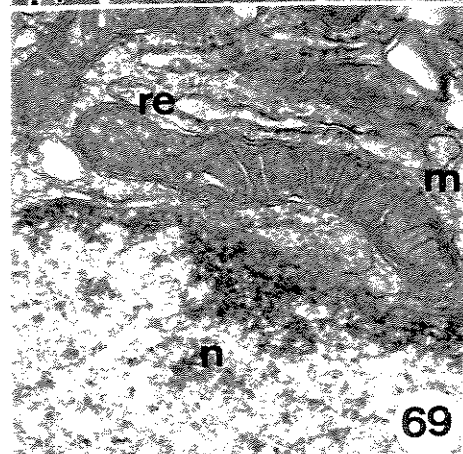
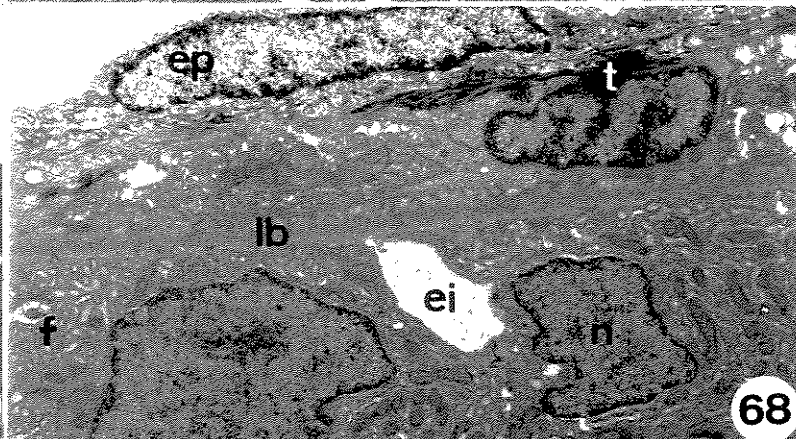
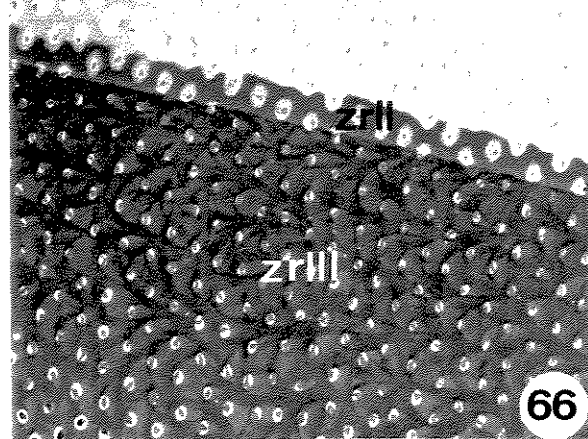
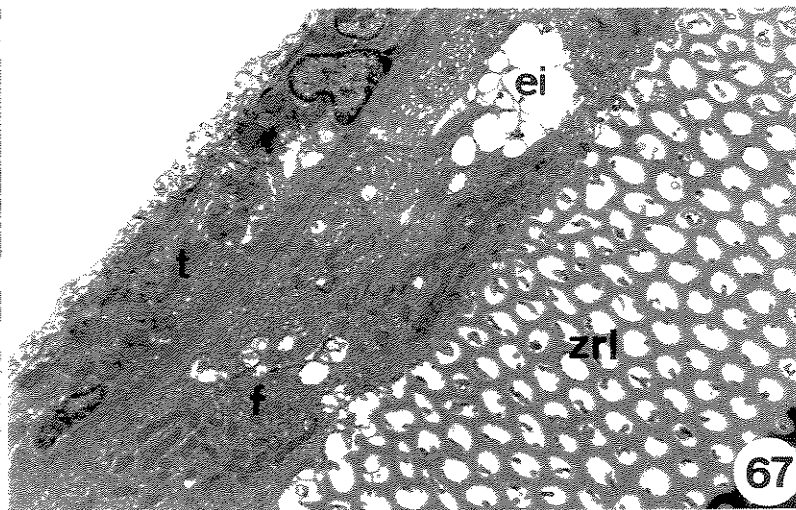
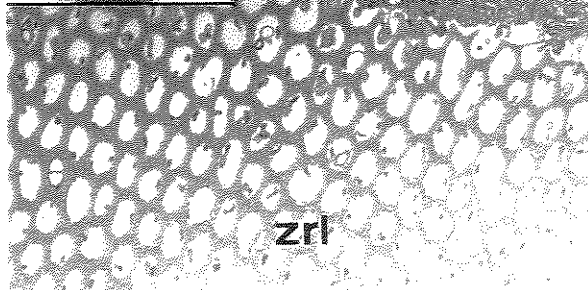
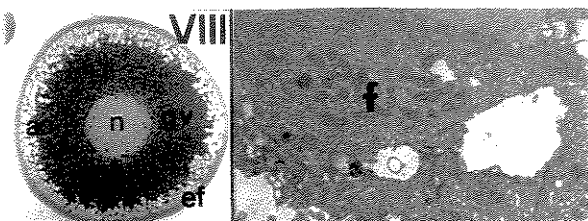
PRANCHA L – OÓCITO EM VITELOGÊNESE. 56 e 57 – Região periférica do oócito contendo precursores dos alvéolos corticais. 56 – x 5400; 57 – 21450. 58 e 59 – Região citoplasmática intermediária do oócito, com precursores dos alvéolos corticais e grânulos de vitelo em formação. 58 – x 16900. 59 – x 10400. 60 e 61 – Região citoplasmática do oócito, próxima ao núcleo, contendo grânulos de vitelo em formação. 60 – x 6500; 61 – x 20800.



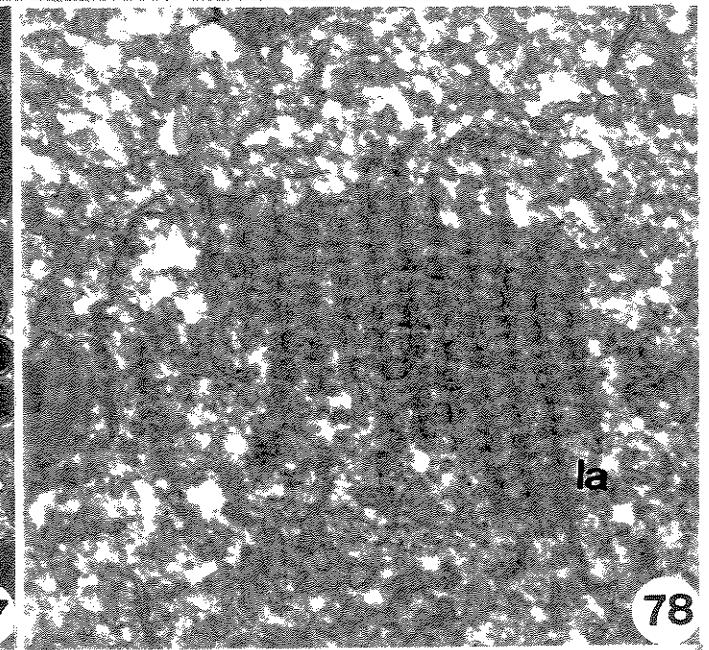
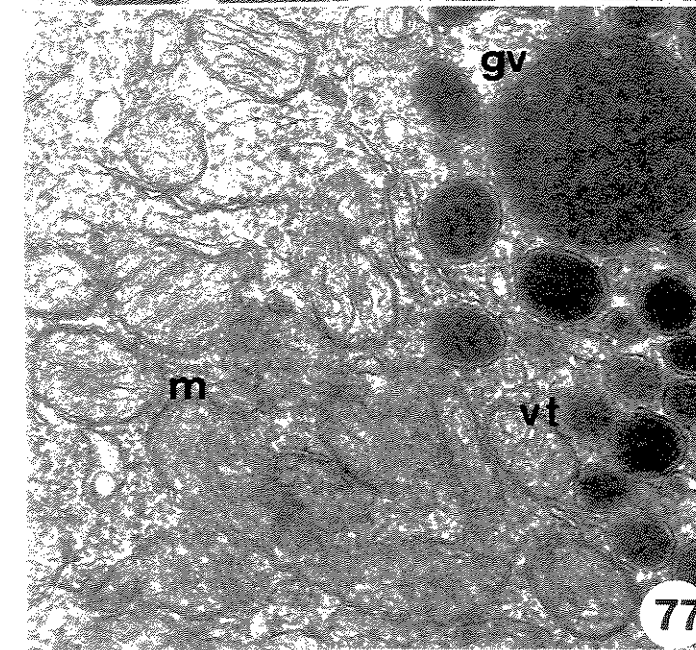
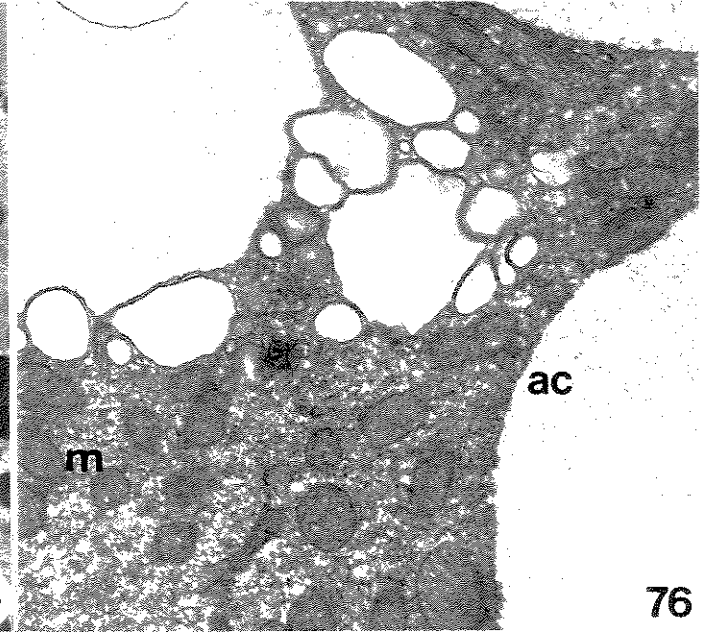
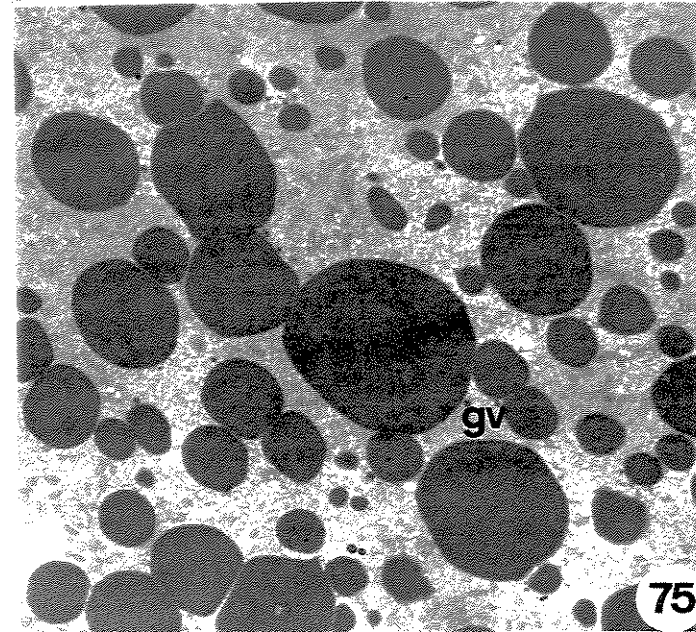
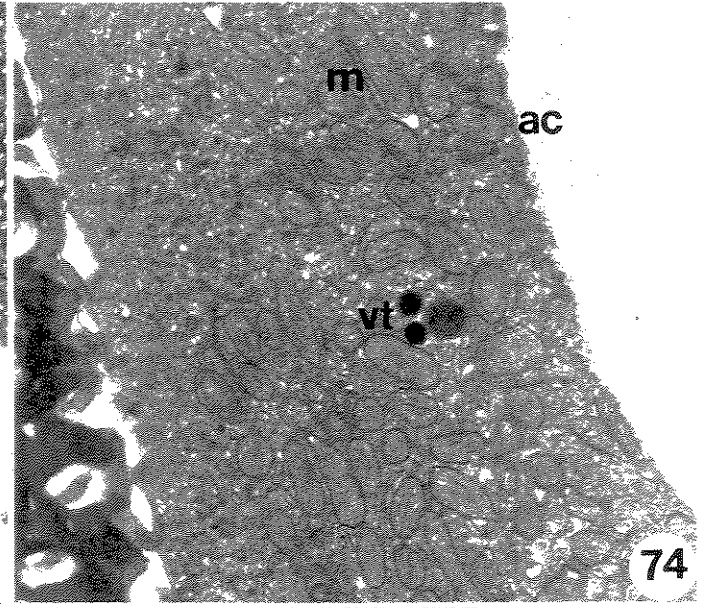
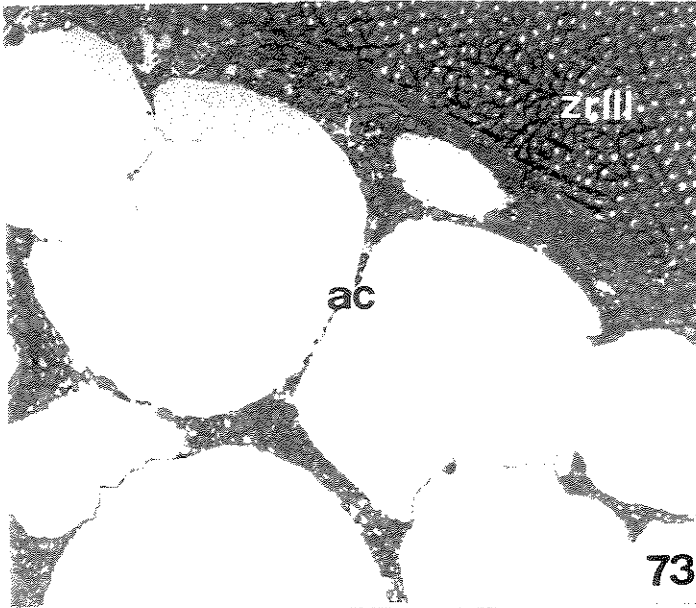
PRANCHA M – OÓCITO EM VITELOGÊNESE. 62, 64 e 65 – Região citoplasmática do oócito, próxima ao núcleo, contendo poros no envoltório nuclear e porção de nucléolo. 62 – x 9000; 64 – x 25200; 65 – x 23400. 63 – Região do núcleo do oócito com nucléolo anelado. x 4700.



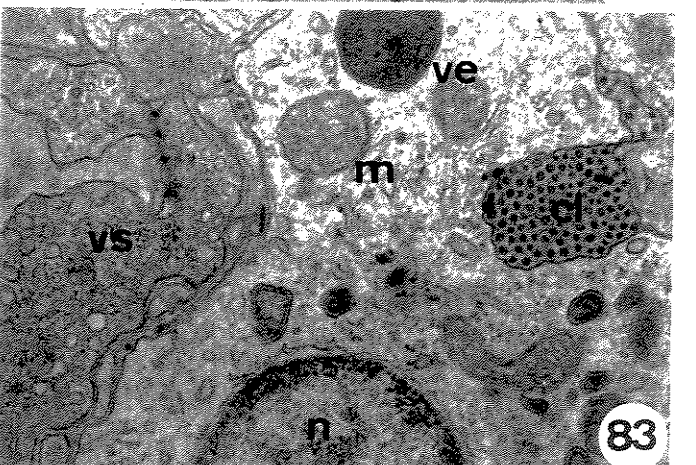
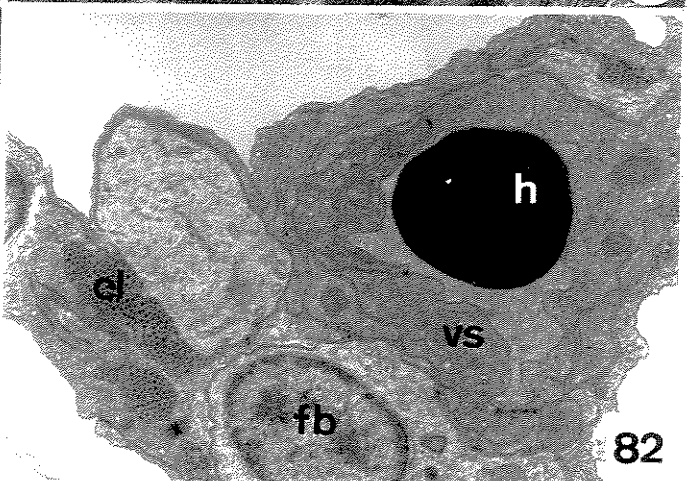
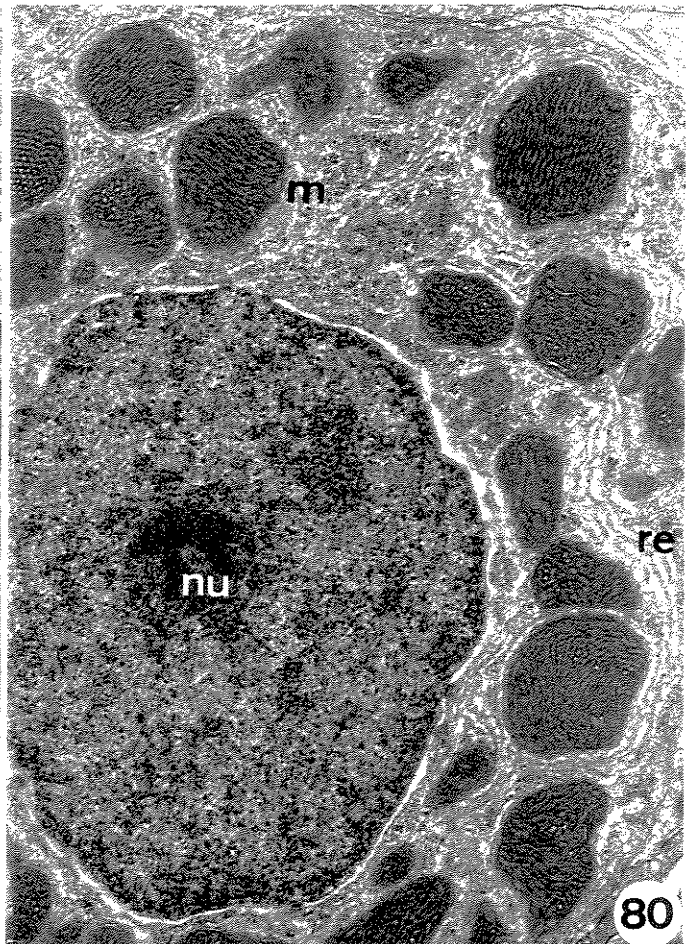
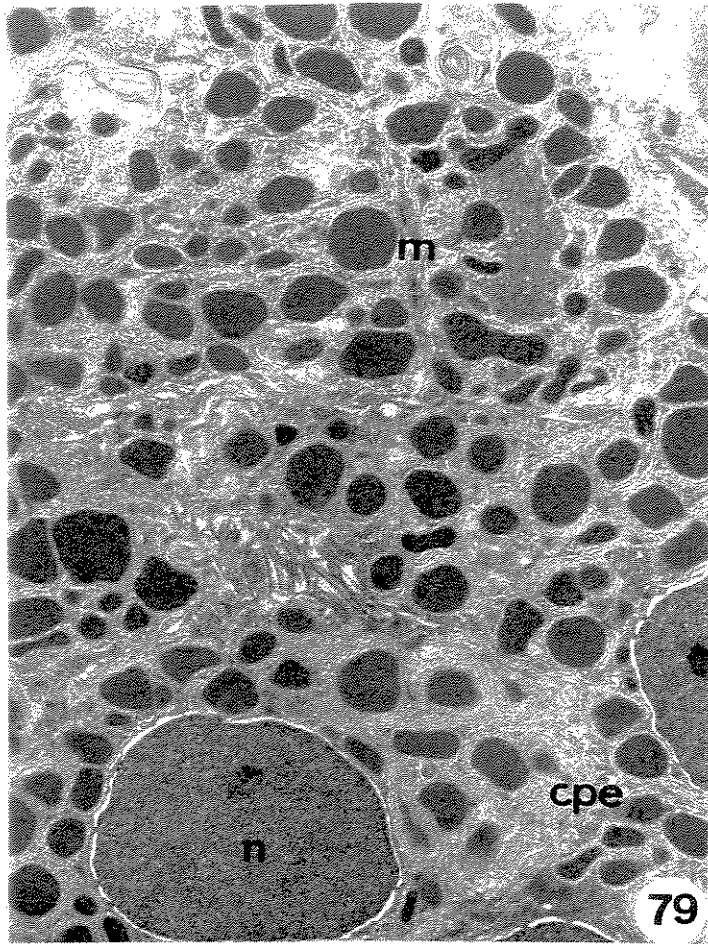
PRANCHA N - OÓCITO EM VITELOGÊNESE FINAL, VIII - Detalhe - Oócito em Vitelogênese Final. x 185. 66 - Zona radiata mostrando sua estrutura tripartida. x 5200. 67 - Região do envoltório folicular e zona radiata. x 5460. 68 - Região do envoltório folicular mostrando células foliculares, teca e epitélio. x 8400. 69 e 70 - Detalhe de célula folicular. 69 - x 41250; 70 - x 24750. 71 - Detalhe mostrando as três regiões da zona radiata. x 27500. 72 - Região de contato entre a zona radiata e o oócito. x 50000.



PRANCHA O – OÓCITO EM VITELOGÊNESE FINAL. 73, 74 e 76– Região periférica do oócito contendo alvéolos corticais. 73 – x 5000; 74 – x 5460; 76 – x 19800. 75 e 77– Região citoplasmática do oócito contendo grânulos de vitelo. 75 – x 4400; 77 – x 46800. 78 – Região citoplasmática do oócito contendo “lamellae anulata”. x 50000.



PRANCHA P – CÉLULAS PRODUTORAS DE ESTERÓIDES E TECIDO INTERSTICIAL. 79 –
Grupamento de células produtoras de esteróide. x 10000. 80 e 81 –
Detalhe de célula produtora de esteróide. 80 – x 21000; 81 – x 50000. 82
e 83 – Região de tecido intersticial. 82 – x 13200; 83 – 27400.



PRANCHA Q – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE OVÁRIO. 84 a 86 – Porção de ovário mostrando a disposição de folículos oocitários (o*) de diferentes tamanhos. 84 – x 3100; 85 – x 10600; 86 – x 11500. 87 – Detalhe de folículo oocitário mostrando o limite celular (setas). x 39400.

