



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIA ANIMAL

DANILO LOURENÇO DE ALBUQUERQUE

**MORFOLOGIA TESTICULAR DE JUVENIS DE OSCAR *Astronotus ocellatus*
AGASSIZ, 1831 (PIRCES: PERCIFORMES, CICHLIDADE)**

MOSSORÓ

2022

DANILO LOURENÇO DE ALBUQUERQUE

**MORFOLOGIA TESTICULAR DE JUVENIS DE OSCAR *Astronotus ocellatus*
AGASSIZ, 1831 (PIRCES: PERCIFORMES, CICHLIDADE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), como requisito para a obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Inovações e Tecnologias em Reprodução Animal

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Barbosa Bezerra

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra de Moura

MOSSORÓ

2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

AA345 Albuquerque, Danilo lourenço de .
MORFOLOGIA TESTICULAR DE JUVENIS DE OSCAR
Astronotus ocellatus AGASSIZ, 1831 (PIRCES:
PERCIFORMES, CICHLIDAE). / Danilo lourenço de
Albuquerque. - 2022.
42 f. : il.

Orientador: Marcelo Barbosa Bezerra .
Coorientador: Carlos Eduardo Bezerra de Moura.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
, 2022.

1. Aquicultura Ornamental. 2.
Espermatogênese. 3. Gônada. 4. Histologia. 5.
Peixes Teleósteos. I. Barbosa Bezerra , Marcelo ,
orient. II. Bezerra de Moura, Carlos Eduardo, co-
orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.



**MORFOLOGIA TESTICULAR DE JUVENIS DE OSCAR *Astronotus ocellatus*
AGASSIZ, 1831 (PIRCES: PERCIFORMES, CICHLIDADE)**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-
Árido como requisito para obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Inovações e
Tecnologias em Reprodução Animal

Defendida em: _30_/03_/2022_.

BANCA EXAMINADORA
 MARCELO BARBOSA BEZERRA
Data: 01/06/2022 13:41:04-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Marcelo Barbosa Bezerra (UFERSA)

Presidente

TIAGO DA SILVA

TEOFILO:05088339496

Assinado de forma digital por

TIAGO DA SILVA

TEOFILO:05088339496

Dados: 2022.06.01 12:09:09 -03'00'

Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo (UFERSA)

Membro Examinador

MOACIR FRANCO DE
OLIVEIRA:32594950459

Assinado de forma digital por MOACIR
FRANCO DE OLIVEIRA:32594950459
Dados: 2022.06.01 12:09:02 -03'00'

Prof. Dr. Moacir Franco Oliveira (UFERSA)

Membro Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DANILO LOURENÇO DE ALBUQUERQUE – Nascido em Cajazeiras, PB, no dia 08.05.1986, filho de Maria do Desterro Lourenço de Albuquerque e Francisco de Albuquerque. Graduiu-se em Geografia pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Medicina Veterinária pelo Instituto Federal da Paraíba (IFPB 2015–2020), com Especialização em Psicopedagogia pelas Faculdades Integradas de Patos (FIP 2011-2012). No referido curso de medicina veterinária, participou de projetos de iniciação científica e projetos de extensão (2016 a 2019). Além disso, realizou estágios no Laboratório de Parasitologia (2016-2017), Monitor da Exposição Répteis da Caatinga (2017), Laboratório de Diagnóstico por Imagem Ultrassonográfica (2017-2018) e na Clínica Médica de Pequenos Animais (2018-2019). Em janeiro de 2020, foi aprovado no processo seletivo para o Mestrado acadêmico em Ciência Animal (PPGCA/UFERSA), onde deu-se início às atividades de mestrado no Laboratório de Tecnologias Reprodutivas e Inovações em Modelos Animais com bolsa de auxílio financeiro pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos meus queridos pais, Maria do Desterro Lourenço de Albuquerque e Francisco de Albuquerque, por todo carinho, incentivo e cuidado. Ao meu grande orientador, Marcelo Barbosa Bezerra, por toda a paciência e ensinamentos passados.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço antes de tudo a **Deus** pelo dom da vida e sem ele nada seria possível.

Aos Meus Pais **Maria do Desterro Lourenço de Albuquerque** e **Francisco de Albuquerque**, por tudo que fizeram e fazem até hoje por mim e que sem eles nada era possível.

A Universidade Federal Rural do Semi-Árido (**UFERSA**) e o Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (**PPGCA**) pela oportunidade e formação.

Ao **Laboratório de Tecnologias Reprodutivas e Inovações em Modelos Animais** (TRIMA/UFERSA, responsável: **Prof. Dr. Marcelo Barbosa Bezerra**) e ao **Laboratório de Morfofisiologia Animal aplicada** (LABMORFA/UFERSA, responsável: **Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira**) por permitir a utilização do espaço, equipamentos e reagentes para realização dos experimentos.

Ao meu grande orientador, **Prof. Dr. Marcelo Barbosa Bezerra**, aquele que se tornou um grande amigo, exemplo de profissional e quem sou eternamente grato pela enorme contribuição para minha formação científica, profissional e pessoal.

Ao meu Coorientador **Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra de Moura** que sempre foi muito paciente, esteve presente em vários momentos da minha formação e sempre esteve disposto a ajudar, ensinar, ficando minha profunda gratidão e carinho.

Aos amigos **Emanuel Lucas**, **Beatriz Fernandes**, **Marcos Vinicius**, **Karoline Rodrigues**, as **Claras** e **Luiza**, meus agradecimentos e dizer que cada um de vocês fizeram parte da minha vida, da minha história e sempre serão lembrados, muito obrigado por tudo.

A essa professora fantástica **Dra. Cibele dos Santos Borges**, aprendi muito com você, muito obrigado pelas oportunidades e por todo aprendizado.

Agradeço também a outra profissional incrível que é a professora **Dra. Michelly Fernandes de Macedo** quando buscava novos conhecimentos, ela sempre se mostrou preparada para ensinar.

Ao **Dr. Tiago da Silva Teófilo** pela força e carinho nos momentos difíceis do meu experimento.

“Ninguém é tão ignorante que não tenha algo a ensinar ou tão sábio que não tenha algo a aprender”.

(Blaise Pascal)

RESUMO

Dentre os teleósteos, o *Astronotus ocellatus* (Oscar) se destaca pela sua beleza e docilidade despertando grande interesse dos aquaríofilas, necessitando de maior compreensão dos elementos que compõe sua reprodução. Com isso, objetivou-se caracterizar as gônadas de machos de *Astronotus ocellatus* (Oscar) juvenis, através de avaliações morfológicas, morfométricas e estereológicas. Macroscopicamente os animais tiveram seus dados biométricos coletados e suas gônadas avaliadas quanto localização e morfologia. Microscopicamente as gônadas foram processadas através de histologia padrão de luz e avaliadas quanto à sua morfologia, estereologia e morfometria. Através do cálculo de diâmetro, os dados obtidos foram submetidos à estatística descritiva através do DP ($\pm$ desvio padrão), no qual foram determinados o diâmetro das espermatogônias primárias e secundárias. Macroscopicamente as gônadas apresentaram estruturas lisas, bilaterais, filiforme, alongadas, uniforme, de cor translúcida a esbranquiçada, aderidos dorsalmente à cavidade celomática, cranialmente bifurcados e caudalmente se unem originando o ducto espermático, que segue até a papila urogenital para que ocorra a espermição, apresentando IGS de 0,023. Microscopicamente foi observado a presença da túnica albugínea revestindo o testículo na sua porção externa e internamente observou-se a diferenciação das gônadas em região tubular e intertubular. Na região tubular foram observados cistos de células grandes, com núcleo redondo a ovoide, basofílico, cromatina condensada apresentando um ou dois nucléolos e citoplasma pouco evidente, que foram identificadas como espermatogônias primárias e secundárias. As espermatogônias primárias apresentaram maior tamanho entre as células da linhagem germinativa ($9,85 \pm 1,13 \mu\text{m}$) e cromatina menos densa. Já as espermatogônias secundárias possuíam tamanho menor ($7,04 \pm 0,78 \mu\text{m}$), cromatina mais densa, com aglomerados redondos dispostos sobre o envelope nuclear. Na região intertubular foram observados a presença de vasos sanguíneos, tecido conjuntivo frouxo e células de Leydig. Na avaliação estereológica do compartimento testicular, foi evidenciado maior predominância das estruturas que compõem o compartimento tubular (88%), como espermatogônias primárias, espermatogônias secundárias e células de Sertoli, e menor proporção de compartimento intertubular (12%).

Palavras-chave: Aquicultura ornamental. Espermatogênese. Gônada. Histologia. Peixes teleósteos.

ABSTRACT

Among the teleosts, *Astronotus ocellatus* (Oscar) stands out for its beauty and docility, arousing great interest among aquarists, requiring a greater understanding of the elements that make up its reproduction. Thus, the objective was to characterize the gonads of juvenile *Astronotus ocellatus* (Oscar) males, through morphological, morphometric and stereological evaluations. Macroscopically, the animals had their biometric data collected and their gonads evaluated for location and morphology. Microscopically, the gonads were processed through standard light histology and evaluated for their morphology, stereology and morphometry. Through the diameter calculation, the data obtained were submitted to descriptive statistics through the SD ($\pm$ standard deviation), in which the diameter of the primary and secondary spermatogonia were determined. Macroscopically, the gonads presented smooth, bilateral, filiform, elongated, uniform, translucent to whitish structures, dorsally attached to the coelomic cavity, cranially bifurcated and caudally they unite, originating the spermatic duct, which goes to the urogenital papilla for spermiation to occur, showing IGS of 0.023. Microscopically, it was observed the presence of the tunica albuginea covering the testis in its external portion and internally, the differentiation of the gonads in tubular and intertubular regions was observed. In the tubular region, large cell cysts were observed, with round to ovoid, basophilic nuclei, condensed chromatin with one or two nucleoli and little evident cytoplasm, which were identified as primary and secondary spermatogonia. The primary spermatogonia showed the largest size among the germ line cells ($9.85 \pm 1.13 \mu\text{m}$) and less dense chromatin. Secondary spermatogonia had a smaller size ($7.04 \pm 0.78 \mu\text{m}$), denser chromatin, with round clusters arranged on the nuclear envelope. In the intertubular region, the presence of blood vessels, loose connective tissue and Leydig cells were observed. In the stereological evaluation of the testicular compartment, a greater predominance of the structures that make up the tubular compartment (88%), such as primary spermatogonia, secondary spermatogonia and Sertoli cells, and a lower proportion of the intertubular compartment (12%).

Keywords: Ornamental aquaculture. Spermatogenesis. Gonad. Histology. Teleost Fish.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Processo de espermatogênese em peixes teleósteos	13
Figura 2- Localização geográfica do município de Aquiraz no estado do Ceará onde fica situada a piscicultura	14
Figura 3- Exemplos em tanques aclimatados na Universidade Rural do Semi-árido (UFERSA)	15
Figura 4- Avaliação anatômica e biométrica dos exemplares de <i>Astronotus ocellatus</i> . 16	
Figura 5- Avaliação histológica através do microscópio (Leica ICC50 HD).....	17
Figura 6- Avaliação estereológica com auxílio do software Image Proplus®	18
Figura 7- Visualização da cavidade anatômica do testículo do <i>Astronotus ocellatus</i> ...	19
Figura 8- Corte histológico de testículo de <i>Astronotus ocellatus</i> corado com Hematoxilina e Eosina (HE).....	21

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

μ	Micrômetro
°C	Graus Celsius
±	Mais ou Menos
a.C	Antes de Cristo
%	Porcentagem
cm	Centímetro
°	Graus
US\$	Dólares
HE	Hematoxilina-Eosina
®	Marca Registrada
mg/L	Miligrama por Litro
pH	Potencial Hidrogeniônico
mg/mL	Miligramas por Mililitros
PG	Peso das Gônadas
PT	Peso Total
IGS	Índice Gonadossomático
H-H-G	Hipotálamo-Hipófise-Gônadas
G1	Espermatogônia Primária
G2	Espermatogônia Secundária
TA	Túnica Albugínea
MB	Membrana Basal
MI	Células Mióides Peritubulares
S	Célula de Sertoli
LY	Célula de Leydig

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivo Geral	7
2.2. Objetivos Específicos	7
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
3.1. Mercado da aquicultura ornamental	8
3.2. <i>Astronotus ocellatus</i>	9
3.3. Peixes teleósteos e o processo reprodutivo	10
3.4. Célula tronco germinativa e espermatogênese	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. Local do experimento	13
4.2. Obtenção dos peixes	14
4.3. Adaptação dos exemplares de <i>Astronotus ocellatus</i>	15
4.4. Coleta e biometria.....	16
4.5. Processamento histológico das gônadas e morfologia	17
4.6. Avaliação morfométrica das espermatogônias	18
4.7. Avaliação estereológica do testículo	18
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
6. RESULTADOS	19
6.1. Avaliação macroscópica das gônadas.....	19
6.2. Avaliação morfológica das gônadas	20
6.3. Avaliação estereológica do testículo	21
7. DISCUSSÃO	22
8. CONCLUSÃO.....	257
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	268

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura ornamental é uma das atividades que mais cresce mundialmente, principalmente pela variedade de espécies e organismos presentes em diversas partes do mundo tanto de água doce quanto de água salgada, o que a torna uma atividade bastante lucrativa e explorada por criadores profissionais e amadores (VIEIRA, 2021).

Na aquicultura ornamental, os teleósteos são peixes ósseos da subclasse Actinopterygii, fortemente presentes, constituindo 96% das espécies conhecidas, apresentando um bom desempenho em diversos ambientes, devido a diversas estratégias reprodutivas (NOBREGA, 2006). Embora essa subclasse de peixe seja considerada amplamente monomorfa sexualmente, estudos demonstram que os machos dessa subclasse possivelmente crescem mais rápido do que as fêmeas (BARROS et al., 2016). Os teleósteos atingem a maturidade sexual com cerca de um ano de idade e se reproduzem até os 9 a 10 anos (GARCIA et al., 2013). A frequência e tempo de sua reprodução podem estar relacionados ao processo reprodutivo modulado por fatores ambientais, como: temperatura, pluviosidade, fotoperíodo e dentre outros parâmetros (HONJI; MOREIRA, 2017).

Além disso, as complexas e múltiplas interações hormonais entre os órgãos sensoriais e reprodutivos, associadas aos eventos reprodutivos, são endogenamente proporcionadas por um sistema neuroendócrino, que envolve essencialmente a participação do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (H-H-G), que libera e sintetiza, o hormônio liberador de gonadotrofinas, as gonadotropinas, o hormônio folículo-estimulante e o hormônio luteinizante, os esteroides gonadais (andrógenos, estrógenos e progestágenos), além de neuromoduladores do processo reprodutivo que podem estimular ou inibir esse processo (como exemplo: dopamina, ácido gama-aminobutírico, hormônio inibidor de gonadotropinas, fator de crescimento similar à insulina, neuropeptídeo Y, kisspeptina) e entre outras substâncias (ZOHAR et al., 2010; LEVAVI-SIVAN et al., 2010).

Dentre os peixes teleósteo destaca-se *Astronotus ocellatus* da família Cichlidae conhecido popularmente como apaiari ou oscar, é um peixe sul-americano originário da bacia amazônica, compreendendo países como Brasil, Venezuela, Colômbia, Equador, Argentina, Paraguai e Peru. Essa espécie foi bastante difundida no nordeste brasileiro pelo Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) em meados dos anos 1938 (FONTENELE, 1982; GARCÍA et al, 2018). Por possuir cores vibrantes que apresentam

tons de vermelho-carmim e um comportamento dócil, a espécie é bastante apreciada pelos aquaríofilas possuindo um alto valor de mercado (FONTENELE; NEPOMUCENO, 1983).

São peixes de substrato reprodutivo biparental apesar de informações sobre sua reprodução na natureza ainda serem limitadas. Em cativeiro geralmente os pares são conhecidos por selecionar e por limpar as superfícies lisas verticais ou horizontais onde depositam de 1000 até 3000 ovos, com maturidade sexual ocorrendo em torno de 12 meses (VAZZOLER, 1996; BARROS et al., 2016).

Entretanto, diversas espécies em cativeiro apresentam dificuldade para reprodução, formação de casais e baixa fecundidade, com período reprodutivo curto, levando à redução de exemplares (FISHBASE, 2020). Sendo a ecobiologia de algumas espécies ainda desconhecida, dificultando o desenvolvimento de protocolos reprodutivos, o conhecimento reprodutivo de espécies de peixes é de grande interesse para a aquicultura ornamental, principalmente visando a reprodução artificial em cativeiro (SOUTO et al., 2017).

Nesse contexto, estudar o desenvolvimento gonadal na fase de puberdade se faz necessário para um maior entendimento e controle de seu comportamento reprodutivo, maturação gonadal e produção de gametas, auxiliando na elaboração de estratégias para adaptações em seus padrões de produção (PASSINI, 2017).

Assim, o emprego de novas biotécnicas reprodutivas como o transplante de células tronco germinativas, fertilização *in vitro*, sexagem de embriões e marcadores moleculares podem ser alternativas com alto potencial biotecnológico e aplicabilidade para reprodução de peixes (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009; YOSHIZAKI; LEE, 2018).

Com isso, objetivou-se nesse estudo avaliar os testículos de peixes *Astronotus ocellatus* jovens, através da caracterização das células germinativas utilizando técnicas morfológicas, morfométricas e estereológicas. No qual, estas técnicas tem se mostrado apropriadas para o aprofundamento do conhecimento da estrutura testicular e do processo de espermatogênese, auxiliando como base para estudos futuros em peixes e para implantação de novas biotecnologias nessa espécie.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar a morfologia das gônadas de machos de peixes Oscar (*Astronotus ocellatus*) juvenis com 6 meses de idade.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1. Descrever macroscopicamente as gônadas de *A. ocellatus*;
- 2.2.2. Estimar o peso das gônadas em relação ao peso total de *A. ocellatus*;
- 2.2.3. Identificar as estruturas que formam os nichos de espermatogônias de *A. ocellatus*;
- 2.2.4. Descrever a estereologia do compartimento testicular de *A. ocellatus*;
- 2.2.5. Caracterizar morfológicamente as gônadas de *A. ocellatus*;
- 2.2.6. Descrever morfometricamente as espermatogônias primárias e secundárias de *A. ocellatus*;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. MERCADO DA AQUICULTURA ORNAMENTAL

A aquicultura ornamental pode ser entendida como um conjunto de condições que visa a criação e manejo de organismos vivos como peixes e plantas, possuindo características que necessitam de condições e cuidados individuais para cada grupo de espécies (CARRACA, 2016). A produção de peixes ornamentais é um ramo bastante antigo pelo mundo, dados históricos remontam que essa atividade surgiu a 400 a.C, com a criação do peixe-japonês conhecido popularmente como peixinho-dourado, além de relatos antigos do livro do peixe vermelho chinês. Contudo essa prática teve início na Europa apenas por volta do século XVII (SAMPAIO; NOTTINGHAM, 2008).

No Brasil esta atividade não é recente, tendo seu início em meados de 1920, sendo introduzida por imigrantes japoneses na região sudeste, que iniciaram a reprodução de algumas espécies em cativeiro. Entretanto, na década de 40 essa prática se tornava mais difundida, porém limitada a poucas propriedades e apresentando pouca variabilidade genética. Nas décadas seguintes de 1950 e 1960 o destaque passa a ser a região Norte com a venda de peixes ornamentais amazônicos (VIDAL JR., 2003; SAMPAIO; NOTTINGHAM, 2008). Com o crescimento constante da aquariofilia mundialmente, a Amazônia vem ampliando a produção de peixes ornamentais tanto para o abastecimento do mercado interno como do mercado externo nos últimos anos, afirmando a sua importância no cenário mundial (ALHO, 2010).

Esse crescimento pode ser explicado pelas tradições milenares em criação de peixes ornamentais ou até mesmo por uma melhora nos padrões de vida da população, ultrapassando os US\$ 6800 bilhões em 2019 no mercado global, onde deverá ter um salto de crescimento para US\$ 11336,47 em 2025 aumentando para 10% sua taxa de crescimento anual (TECHSCI RESEARCH, 2021).

As espécies de peixes ornamentais que são apreciadas na aquariofilia, são as que apresentam maior variedade de cores, hábitos e formas, conquistando admiradores ao redor de todo o mundo, essas espécies agregam maior valorização de mercado (WABNITZ et al., 2003). Singapura surge como maior exportador de peixes ornamentais (US\$ 50.2 milhões), seguido da Espanha (US\$ 34.6 milhões) e Japão (US\$ 30.4 milhões). Já o Brasil ocupa a 13ª posição, com US\$ 6,5 milhões anuais provenientes das

exportações de peixes ornamentais (FARIA et al., 2016; INTERNATIONAL TRADE CENTER, 2018).

Uma vez inserido no “comércio Pet”, o mercado de peixes ornamentais movimenta em torno de 1,5 bilhões de dólares ao ano com a venda de espécies, juntamente com os 27,2 bilhões de dólares resultantes da compra de artigos necessários para a manutenção desses peixes em todo o mundo (PLOEG, 2013). Contudo, o Brasil não apresenta informações mais precisas e dados mais consistentes sobre o número de produtores, lojas e exemplares comercializados, tornando a atividade alvo de clandestinidade. Dentre os principais países compradores de peixes ornamentais brasileiros estão Hong Kong, Tailândia, Japão, Estados Unidos e Alemanha (ARAÚJO et al., 2017).

No estado do Rio Grande do Norte a aquicultura ornamental vem se desenvolvendo nos últimos anos, principalmente na região de Natal, sendo uma importante fonte de renda até para os pequenos produtores que não dispõem de grandes espaços para suas produções, entretanto, muitos produtores ainda trabalham informalmente, necessitando de maiores investimentos para o setor (DE FARIA et al., 2019).

3.2. *ASTRONOTUS OCELLATUS*

O *Astronotus ocellatus* é um peixe da ordem Perciformes, pertencente à família Cichlidae, possuindo várias linhagens, como o *oscar red ruby*, *oscar red ruby albino*, *oscar red tiger* e *oscar red tiger albino*, com mistura de cores (branco, laranja, vermelho, dourado, preto) vibrantes e marcantes, com presença de um ocelo quase circular, de cor preta ou vermelho-carmim, localizado no pedúnculo caudal (FONTENELE; NEPOMUCENO, 1983).

O *A. ocellatus*, popularmente conhecido como Oscar, é um peixe teleósteo, originário da bacia amazônica, compreendendo países como Brasil, Colômbia e Peru (ROBINS, 2017). Suporta baixos índices de oxigênio dissolvidos na água, podendo resistir em níveis inferiores a 0,4 mg/L (MUUSZE et al., 1998). Resistente a faixa de pH variando de 6 a 7, tendo pouca tolerância à salinidade, baseando-se na sua distribuição pelo rio Amazonas (WEBB; MAUGHAN; KNOTT, 2007).

Na natureza atingem a primeira maturação gonadal entre 10 e 12 meses de idade, com média de 12 cm (PINTO-PAIVA, 1989.), momento em que se acasalam e desovam (BRAGA, 1962), variando em número de desovas entre 3 a 4 vezes por anos (SILVA et al., 1993), principalmente no nordeste brasileiro, com desovas que variam entre outubro e abril (FONTENELE, 1982). Essa espécie apresenta cuidado parental (SILVA et al., 1993), os ovos são adesivos e desova entre 1500 a 2000 unidades por desova colocados em locais limpos e lisos (BRAGA, 1962; ROBINS, 2017) e não apresentam dimorfismo sexual, apesar de os machos tenderem ser maiores e mais coloridos (ROBINS, 2017).

Os *A. ocellatus* desempenham papel biparental, onde após a eclosão dos ovos, cerca de 4 dias, a proteção às larvas por várias semanas é realizada principalmente pelas fêmeas (BAERENDS; BAERENDS-VAN RON, 1992). É uma espécie gregária concentrando-se em cardumes quando alevino e juvenil, constituindo casais na fase adulta permanecendo mais distanciados do grupo (FELDBERG; PORTO; BERTOLLO, 2003). Contudo, em cativeiro algumas variedades apresentam dificuldade para reprodução, formação de casais e baixa fecundidade, com período reprodutivo curto. Estes fatores dificultam a disponibilidade de exemplares em continuidade no mercado (FISHBASE, 2020).

Possui características para fins ornamentais, devido a sua grande beleza e docilidade, como também é um importante recurso pesqueiro, se destacando em algumas regiões do Brasil na culinária por apresentar carne branca e saborosa, firme e sem espinhas intramusculares (FONTENELE; NEPOMUCENO, 1983), podendo ser encontrado em açudes e rios nordestinos ou cultivados em diferentes sistemas controlados (BORGES, 2010).

No Brasil está espécie se desenvolveu no ano de 1938 através do departamento Nacional de Obras contra as Secas (DNOCS) ao realizarem peixamento em lagoas no país, se destacando pela sua habilidade de disseminação e possuindo a capacidade de adaptação em novos ambientes, chegando a uma produção em 100 açudes a uma média de 506,76 t/anos nos anos de 1978 a 1988 (SILVA; REGIS; BEZERRA, 1993).

3.3. PEIXES TELEÓSTEOS E O PROCESSO REPRODUTIVO

Os peixes vertebrados abrangem cerca de 32.000 espécies, representando mais da metade dos vertebrados vivos no mundo (NELSON et al., 2016). Os teleósteos se destacam por serem bastante numerosos, representando 96% das espécies de peixes,

apresentando grande variação morfológica, ciclo de vida e reprodução, favorecendo seu desenvolvimento nos mais variados ambientes, influenciando diretamente na sua gametogênese (ALEXANDRINO et al., 1985; NÓBREGA, 2003; NÓBREGA, 2006).

Esses peixes surgiram há 30 milhões de anos, apresentam quatro subclasses, e atualmente são conhecidos como peixes ósseos modernos, com mais de vinte mil espécies em 4.064 gêneros, 426 famílias, 38 ordens (NELSON, 1994), sendo que o estudo da biologia reprodutiva dessas espécies de peixes é fundamental para a aplicação e desenvolvimento de novas biotécnicas reprodutivas (AGULLEIRO et al., 2006).

A temperatura ambiente afeta diretamente no metabolismo e desempenho reprodutivo nos teleósteos (VAGNER et al., 2019), durante a reprodução os peixes recebem estímulos ambientais e endócrinos que fazem com que o eixo hipotálamo, hipófise e gônadas iniciem o processo reprodutivo (TAKEY; LORETZ, 2006). Estes estímulos ambientais e endócrinos promovem a maturação gonadal dos peixes que irão a depender do tipo de fertilização (interna ou externa) promover o encontro dos gametas masculinos e femininos, sendo mais comumente a liberação em ambiente aquático durante a reprodução (TYLER; SUMPTER, 1996; ROCHA; ROCHA, 2006).

Na maioria dos teleósteos, os testículos são pares, alongados aderidos à parede abdominal através do mesórquio, que unificados formam o único ducto espermático, tendo o sêmen eliminado através da papila urogenital (NAGAHAMA, 1983; EVANS; CLAIBORNE, 2006). Os testículos ainda apresentam células de Leydig, responsáveis pela formação de esteroides e possuem formação de células germinativas situadas no seu compartimento germinativo (SCHULZ; NÓBREGA, 2011). Nos teleósteos o epitélio germinativo é dividido em contínuo e descontínuo, sendo o último responsável pela liberação de células germinativas quando ocorre liberação dos espermatozoides (GRIER; TAYLOR, 1998; GRIER; LO NOSTRO, 2000).

Em relação a sua fecundidade, os teleósteos apresentam uma amplitude enorme (cerca de 10 até milhões de ovócitos), sendo divididas em guardadoras, não guardadoras e carreadoras. Espécies não guardadoras liberam grande número de ovócitos e espermatozoides livres no meio aquático, quantidade esta suficiente para balancear as pressões ambientais e que não dispensam qualquer guarda à sua prole. Já as carreadoras, são espécies com fecundação e desenvolvimento internos, onde a liberação apenas quando o novo organismo está capaz de viver independentemente (VAZZOLER, 1996). Ainda existem as guardadoras, que são espécies que dispensam cuidado à prole em graus

diferentes. Nos teleósteos, a maioria das espécies são não guardadoras, se seguindo das guardadoras e das carregadoras (VAZZOLER, 1996; HONJI; MOREIRA, 2017).

3.4. CÉLULA TRONCO GERMINATIVA E ESPERMATOGÊNESE

As células tronco da linhagem germinativas são células indiferenciadas, que podem se diferenciar para formar gametas de ambos os sexos, tendo sua origem a partir das células germinativas primordiais (NÓBREGA et al., 2010). Essas células têm papel fundamental na transmissão do material genético para a próxima geração, garantindo assim a perpetuação da espécie e sua diversidade (LEE et al., 2013).

As células germinativas primordiais migram para a crista gonadal, onde irão se fixar e realizar seu desenvolvimento em célula tronco germinativa, se especializando em espermatogônia nos machos e oogônias nas fêmeas, originando mais tarde espermatozóides e oócitos, respectivamente (MOLYNEAUX; WYLIE, 2004).

Essas células tronco da linhagem germinativas, também são evidenciadas na literatura como espermatogônia primária ou tipo A, se apresentando morfológicamente como células de tamanho e diâmetro grande, contendo cromatina esparsa, membrana nuclear e núcleo proeminente sendo ainda composta de agregação de RNAs e proteínas (SCHULZ et al., 2010).

A espermatogênese consiste no processo especializado de formação de gametas masculinos que ocorre dentro dos testículos e se apresentam em forma de cistos com eventos coordenados, no qual células espermatogênicas diplóides realizam inúmeras mitoses, duas meioses e se diferenciam em espermatozóides maduros. A fase mitótica caracteriza-se pela presença de espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas; a fase meiótica é composta por espermatócitos primários e secundários, enquanto que na fase espermiogênica as espermátides se capacitam alterando sua morfologia até se tornarem espermatozoides para a fecundação, podendo ser observada na Figura 1 (SCHULZ et al., 2010; RIBEIRO., 2021)

As espermatogônias necessitam diretamente da presença de células somáticas de Sertoli para desenvolver a espermatogênese, no qual são responsáveis pela sua continuidade, sobrevivência, função de secreção e de fagocitação de restos celulares resultantes de apoptose e compor a barreira hemato testicular (SCHULZ et al., 2010) (Fig.1).

Inúmeros estudos vêm sendo realizados com o objetivo de aperfeiçoar o isolamento e purificação das células da linhagem germinativa tronco, resultando na obtenção de espermatogônias que poderão ser usadas para diversos estudos e novas biotecnologias com essa linhagem celular (LACERDA et al., 2006, 2013).

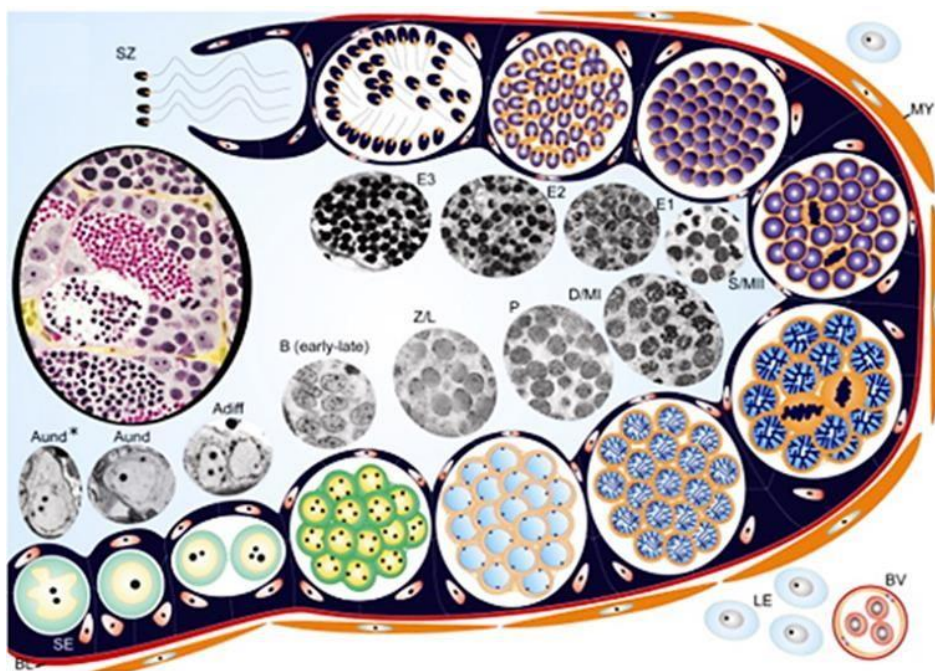


Figura 1- Processo de espermatogênese em peixes teleósteos. Processo de espermatogênese em peixes teleósteos. Segmentos de túbulos espermatogênicos ilustram as relações existentes entre a célula de Sertoli e células germinativas no desenvolvimento da espermatogênese cística. O epitélio germinativo contém Sertoli (SE) e células germinativas, delineadas por uma lâmina basal (BL) e células mióides peritubulares (MY). Espermatogônias indiferenciadas do tipo A * (A und *) (provável células-tronco); espermatogônias indiferenciadas tipo A (Aund); espermatogônias diferenciadas tipo A (A diff); espermatogônia tipo B [B (precoce-tardia)]; espermatócitos primários leptotênicos / zigotênicos (L / Z); espermatócitos primários paquitênicos (P); espermatócitos diplotênicos / metáfase I (D / MI); espermatócitos secundários / metáfase II (S / MII); espermátides precoces (E1), intermediárias (E2) e finais (E3); espermatozóides (SZ). Adaptado de Schulz et al., 2010.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. LOCAL DO EXPERIMENTO

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Tecnologias Reprodutivas e Inovações de Modelos Animais (TRIMA) em parceria com o Laboratório de Morfofisiologia Animal aplicada (LABMORF). Ambos os laboratórios estão situados na

4.3. ADAPTAÇÃO DOS EXEMPLARES DE *ASTRONOTUS OCELLATUS*

Os exemplares foram aclimatados na Universidade Rural do Semi-árido (UFERSA), no setor da piscicultura em tanques de 1.000 L com aeração constante por cerca de 3 dias, utilizando um sistema de abastecimento de recirculação de água previamente purificada e oxigenada, sendo monitorados a cada 12 horas. Parâmetros importantes relacionados ao bem estar dos animais foram observados, tendo seus valores de temperatura estabelecidos a 27°C, pH 6,5, oxigênio dissolvido como média de 4,9 mg/L.

O controle de luz foi instituído através do fotoperíodo, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro e a nutrição utilizada tendo base ração comercial contendo farelo de soja, farinha de lula, farinha de peixe, fécula de mandioca, farinha de milho, Gammarus, óleo de soja refinado, leveduras, fonte de nucleotídeos (2%), spirulina desidratada, premix vitamínico mineral, proteína texturizada de soja, corante natural urucum, premix mineral, aditivo prebiótico (0,09%), astaxantina (0,08%), antioxidantes (Etoxiquin, ácido cítrico, ácido fosfórico, BHA, BHT), aditivo enzimático (0,05%). Espécies doadoras de gene: *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus thuringiensis*, *Streptomyces viridochromogenes*, sendo raçadas duas vezes ao dia e suspensa no período de 24 horas que antecederam as análises.



Figura 3- Exemplares em tanques aclimatados na Universidade Rural do Semi-árido (UFERSA).

4.4. COLETA E BIOMETRIA

O processamento testicular dos animais ocorreu no Laboratório de Tecnologias Reprodutivas e Inovações em Modelos Animais (TRIMA). Os animais apresentavam o mesmo padrão de idade, tamanho e peso (Fig. 4A). Posteriormente, os peixes foram retirados dos tanques e anestesiados usando uma dose sub-letal de 0,1 mg/mL de Benzocaína até a redução seguida da parada total da motilidade opercular e, subsequentemente, foram eutanasiados por secção medular. Com o uso de um paquímetro e balança digital, o comprimento total e o peso corporal foram mensurados, respectivamente (Fig. 4B).

Os peixes *A. ocellatus* foram apoiados em decúbito dorsal em uma superfície previamente adaptada, e seguiu-se para a secção na papila urogenital, com corte ventral no sentido posterior-anterior. Os 7 animais tiveram seus dados biométricos registrados, tendo suas gônadas observadas *in situ*, coletadas e em *ex situ* avaliados anatomicamente com características de coloração, volume, peso e comprimento (Fig. 7B,C). Os dados coletados serviram como base para calcular o índice gonadosomático (IGS) seguindo protocolo proposto por Vazzoler, 1996, no qual o $IGS = PG/PT \times 100$, sendo PG o peso das gônadas e PT o peso total do animal. Este índice é considerado importante para interpretação das fases do ciclo reprodutivo, no qual seus valores estão intimamente correlacionados com as fases de maturação das células germinativas.

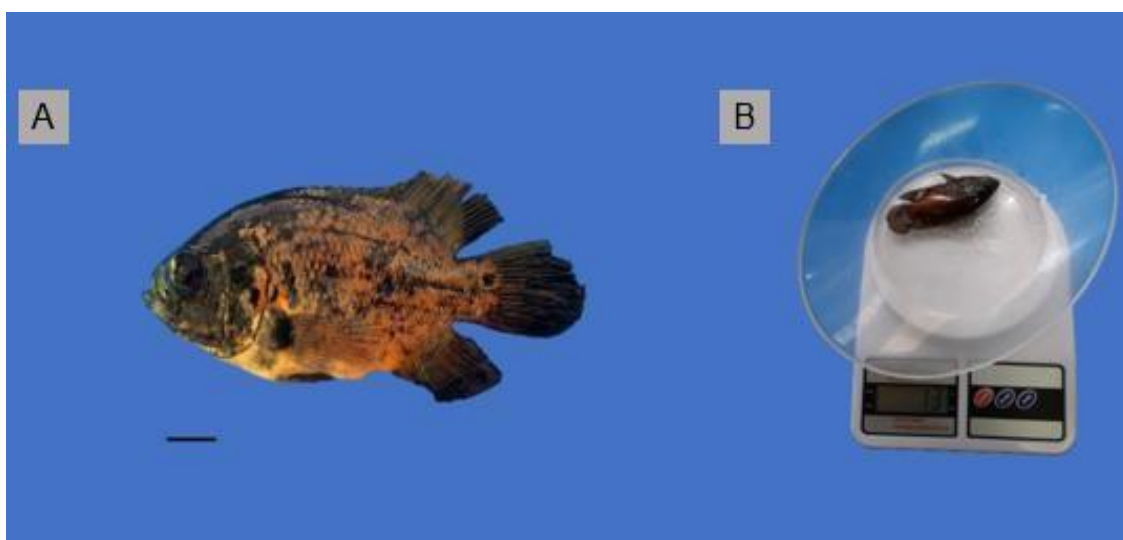


Figura 4- Avaliação anatômica e biométrica dos exemplares de *Astronotus ocellatus*. A: Exemplar de *Astronotus ocellatus*. (Escala de 1 cm). B: Avaliação anatômica e biométrica dos exemplares.

4.5. PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DAS GÔNADAS E MORFOLOGIA

Após coletados, os testículos foram identificados, avaliados e imediatamente fixados em paraformaldeído a 4% onde permaneceram por 24 horas, seguindo posteriormente para o processamento histológico e avaliação das gônadas em microscopia de luz.

Para o processamento histológico as gônadas foram retiradas do fixador, colocadas em cassetes previamente identificados, passando por banhos de desidratação em álcool crescente nas concentrações de 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 100% e a diafanização com banhos em xilol, onde seguiram para a inclusão em parafina.

No bloco em parafina foi realizada a técnica de trimagem, para facilitar o corte, assim como o desbaste. Posteriormente foi realizado cortes seriados e o tecido foi seccionado a 3 μ m, com o auxílio de micrótomo (Leica RM 2125 RTS). As secções obtidas foram preparadas em banho maria e seguiram para o processamento de coloração em Hematoxilina/ Eosina (HE). As lâminas seguiram para avaliação histológica e suas imagens captadas através do microscópio (Leica ICC50 HD) (Fig. 5).



Figura 5- Avaliação histológica através do microscópio (Leica ICC50 HD)

4.6. AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DAS ESPERMATOGÔNIAS

Através do software Image Proplus® versão 4.5, foram realizadas as mensurações e obtidos resultados da média do diâmetro do núcleo das espermatogônias primárias e secundárias, sendo mensurado as maiores distâncias da área do diâmetro da célula e calculadas a partir da fórmula para volume de uma esfera, $V = 4/3 \pi r^3$, no qual $R = \text{diâmetro do núcleo}/2$. A análise ocorreu por toda a extensão do testículo, considerando as características morfológicas mais evidentes, no qual 100 espermatogônias para cada tipo de linhagem tiveram seus núcleos mensurados, sendo utilizados os 7 animais para essa análise. Os dados coletados serviram para caracterizar a média do núcleo da espermatogônia primária e secundária do *A. ocellatus*.

4.7. AVALIAÇÃO ESTEREOLÓGICA DO TESTÍCULO

A análise estereológica foi realizada com o auxílio do software Image Proplus® versão 4.5, no qual foram avaliadas todas as gônadas, obtendo imagens de 10 áreas de cortes histológicos com aumento de 400 vezes de cada animal. Os intervalos foram estimados em 20µm entre os cortes para evitar a repetição da contagem da mesma célula. A análise visa identificar células que caracterizam os compartimentos tubulares e intertubulares (Fig. 6).

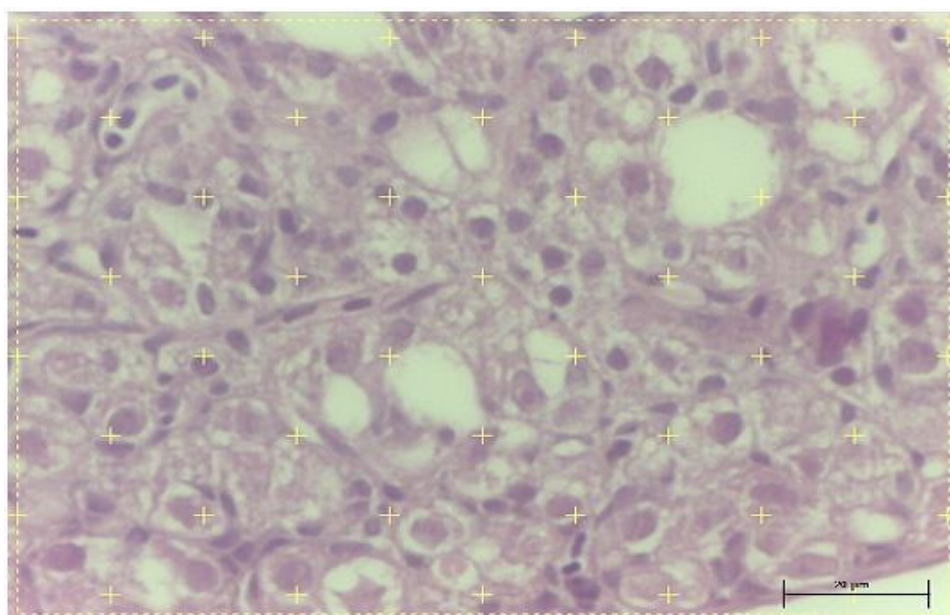


Figura 6-Avaliação estereológica com auxílio do software Image Proplus®

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com a análise morfométrica e através do cálculo de diâmetro, os dados obtidos foram submetidos à estatística descritiva através do DP ($\pm$ desvio padrão), no qual foram determinados o diâmetro das espermatogônias primárias e secundárias.

6. RESULTADOS

6.1. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS GÔNADAS

As gônadas de *A. ocellatus* são estruturas lisas, bilaterais, filiforme, alongadas, uniformes, de cor translúcida a esbranquiçada, aderidas dorsalmente à cavidade celomática, cranialmente bifurcadas e caudalmente se unem originando o ducto espermático, que segue até a papila urogenital para que ocorra a espermiação (Fig. 7B).

Após a coleta dos dados biométricos, foram realizados os cálculos para determinação do Índice Gonadosomático (IGS), no qual a média dos valores obtidos foi de 0,023.

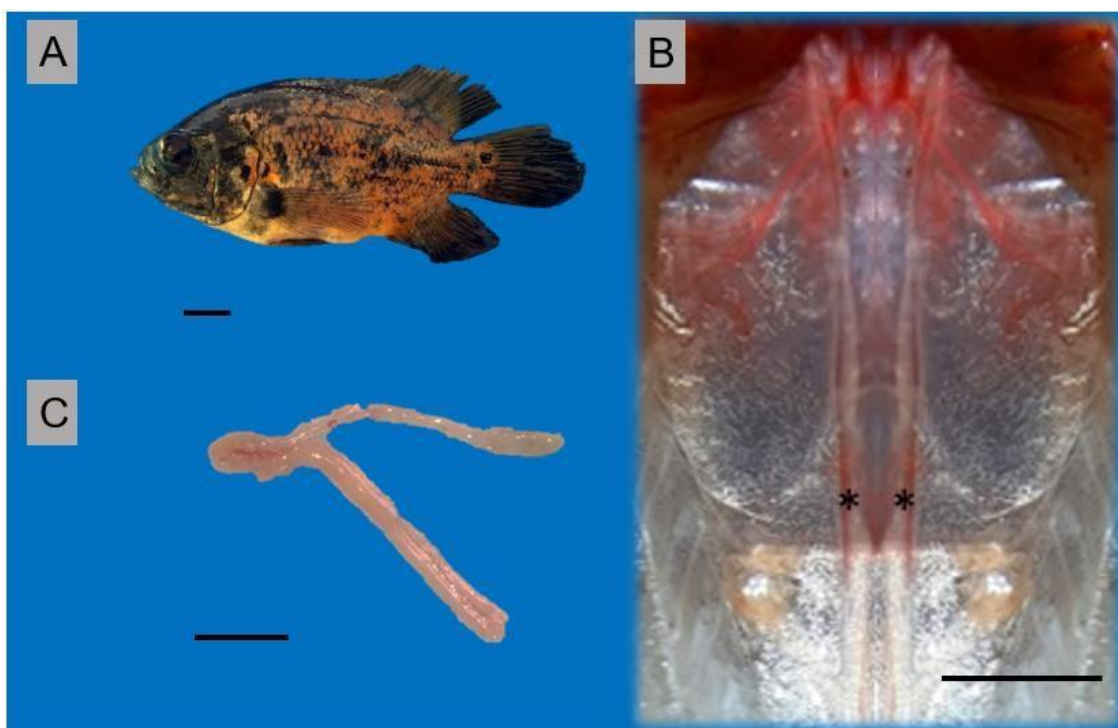


Figura 7-Visualização da cavidade anatômica do testículo do *Astronotus ocellatus*. **A:** Imagem do peixe *Astronotus ocellatus*. **B:** Distribuição anatômica do testículo do *A. ocellatus* *in situ*. **C:** Anatomia do testículo do *A. ocellatus* *ex situ*. (escala 1cm).

6.2. AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS GÔNADAS

Na análise morfológica das gônadas, foi observada a presença da túnica albugínea revestindo o testículo na sua porção externa (Fig. 8A). Internamente o desenvolvimento gonadal ocorre de forma cística, se diferenciando em região tubular e intertubular (Fig. 8B). Na região tubular foram observados a presença de cistos de células grandes (as maiores células encontradas no tecido), com núcleo redondo a ovoide, basofílico, cromatina que variava sua condensação, apresentando um ou dois nucléolos e citoplasma pouco evidente, que foram identificadas como espermatogônias primárias e secundárias (Fig. 8C, D). Essas células germinativas foram diferenciadas principalmente através do tamanho dos seus núcleos e disposição da cromatina, no qual a primeira apresenta núcleo com maior tamanho de todas as células da linhagem germinativa ($9,85 \pm 1,13 \mu\text{m}$) e cromatina menos condensada (Fig. 8D). Já a segunda possui núcleo de tamanho menor, cromatina mais condensada, com aglomerados redondos dispostos sobre o envelope nuclear ($7,04 \pm 0,78 \mu\text{m}$) (Fig. 8C). Elas foram observadas por toda a região testicular e sempre envolvidas pelos prolongamentos citoplasmáticos de células de núcleo com formato esférico ou triangular e alongadas, identificadas como células de Sertoli (Fig. 8C).

Na região intertubular foram observados a presença de vasos sanguíneos, tecido conjuntivo frouxo e células que tinham como característica núcleo esférico ou ovóide e cromatina descondensada, identificadas como células de Leydig (Fig. 8C). Além disso, foram observadas células fusiformes, alongadas de núcleo denso, caracterizadas como células mióides peritubulares e a membrana basal delimitando o compartimento tubular do compartimento intertubular (Fig. C).

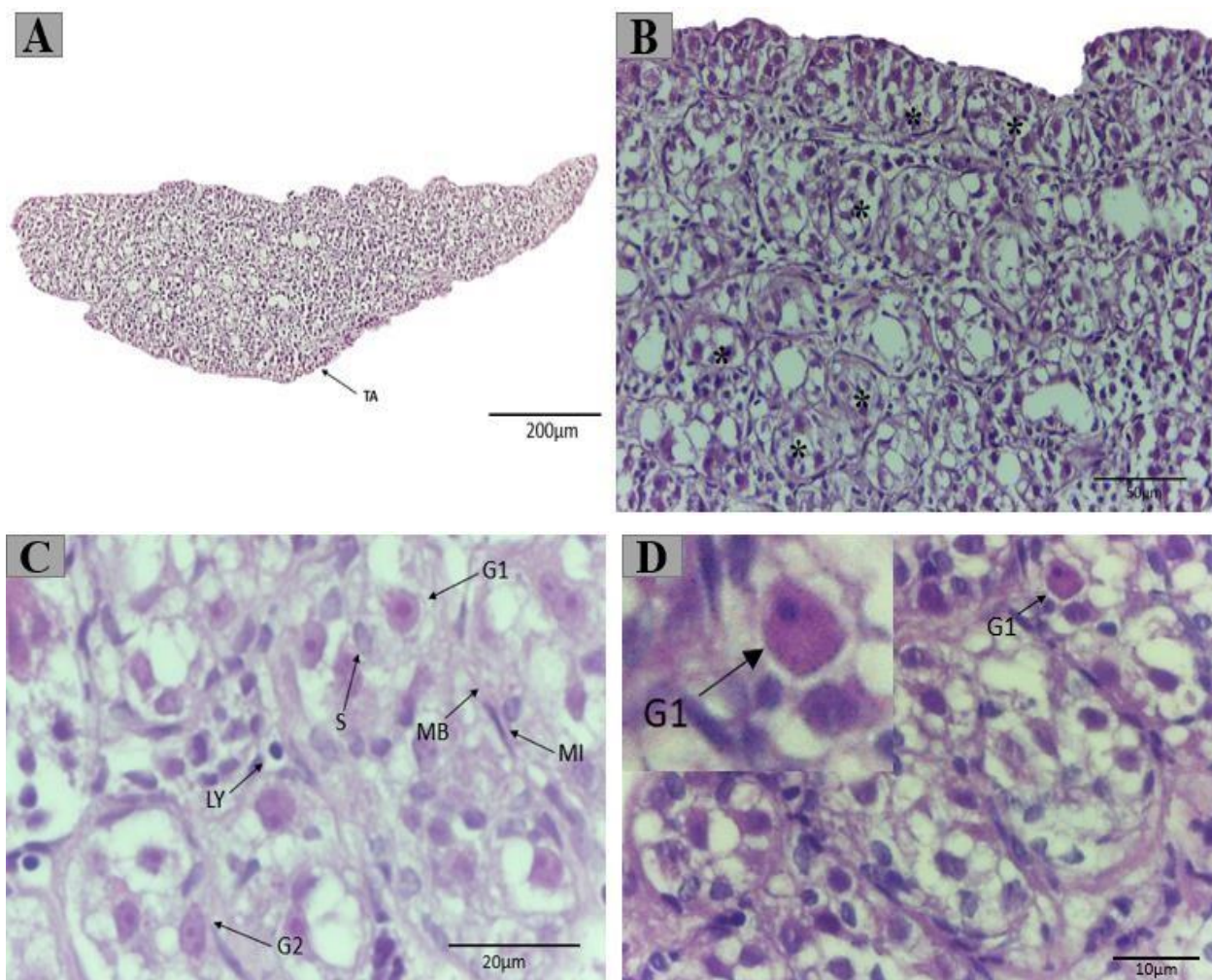


Figura 8- Corte histológico de testículo de *Astronotus ocellatus*, corado com Hematoxilina e Eosina (HE). **A:** Túnica Albugínea (TA). **B:** Diversos túbulos seminíferos em organização cística (*). **C:** Componentes testicular com diferentes células germinativas, espermatogônias primárias (G1), espermatogônias secundárias (G2), Membrana Basal (MB), células mióides peritubulares (MI), células de Sertoli (S), células de leydig (LY), **D:** Espermatogônia primária.

6.3 AVALIAÇÃO ESTEREOLÓGICA DO TESTÍCULO

Na avaliação estereológica do compartimento testicular, foi evidenciado maior predominância das estruturas que compõem o compartimento tubular (88%). Principalmente espermatogônias primárias, espermatogônias secundárias e células de Sertoli (Fig. 8C, D), foram visualizadas com frequência nas extremidades do testículo, próximo a túnica albugínea. Além de difundidas por toda a extensão do testículo. Já o compartimento intertubular foi evidenciado em menor proporção (12%), sendo também visualizado em toda extensão testicular e identificado principalmente pela presença de tecido conjuntivo (Fig. 8 C).

7. DISCUSSÃO

Diversos estudos estão sendo desenvolvidos utilizando peixes como modelo experimental, objetivando principalmente o conhecimento sobre sua reprodução através da espermatogênese. Nesse contexto, conhecer a biologia reprodutiva dessas espécies se faz necessária para desenvolver novos mecanismos de preservação, quanto para o aperfeiçoamento de novas biotecnologias reprodutivas (DIAS et al., 2017, VIANA et al., 2022; YOSHIZAKI, 2018).

O presente estudo visa demonstrar o desenvolvimento morfológico gonadal do *Astronotus ocellatus*, visto a importância que a espécie representa no cenário da aquicultura mundial. Assim, difundir ainda mais os conhecimentos sobre a reprodução de peixes teleósteos, como também, a caracterização morfológica de células que compõem a espermatogênese na idade reprodutiva nessa espécie. Nesse contexto, a espécie possui um grande potencial para trabalhos futuros com uso de biotecnologias reprodutivas.

A avaliação macroscópica das gônadas foi realizada dentro e fora da cavidade celomática, permitindo sua identificação em gônadas masculinas, no qual esses testículos se apresentavam como estruturas lisas, bilaterais, filiforme, alongadas, uniforme, de cor translúcida a esbranquiçada, aderidos dorsalmente à cavidade celomática, cranialmente bifurcados e caudalmente se unem originando o ducto espermático, que segue até a papila urogenital para que ocorra a espermição, assim como estudo em *Astronotus ocellatus*, adulto, com 12 meses de idade descrito por Mansur (2018). Entretanto, em estudo realizado em teleósteo *Arapaima gigas* (AMARAL, 2020) foi observado presença apenas da gônada esquerda em todos os peixes analisados, mesmo em peixes de tamanho variado, não havendo indicação de desenvolvimento gonadal no lado direito.

Morfológicamente as gônadas tem sua coloração e forma variando de acordo com o estágio de maturação que se encontra, sendo que, animais em estágio de maturação menos avançada as gônadas apresentam-se delgadas, filiformes e esbranquiçadas. Já com o avanço da maturação essas gônadas se tornam mais volumosas e apresentam coloração mais amarelada (QUAGIO-GRASSIOTTO et al., 2013).

O estágio de maturação das gônadas também pode ser analisado através dos métodos qualitativos expressados pelo índice gonadossomático (IGS), auxiliando no entendimento do período reprodutivo no qual o peixe se encontra. Neste caso, quanto menor é a porcentagem desse índice, maior é a imaturidade dessa gônada (VAZZOLER,

1996). Portanto, pelo baixo valor encontrado pelo IGS em conjunto com as características macroscópicas, os animais não apresentavam estágio de maturação gonadal avançado.

Microscopicamente foi possível confirmar o sexo gonadal dos peixes, no qual apresentaram em sua porção mais externa a presença da túnica albugínea revestindo as gônadas. Além disso, como ocorreu em outros peixes teleósteos, internamente o desenvolvimento gonadal ocorre de forma cística, se diferenciando em região tubular e intertubular (BATLOUNI, ROMAGOSA, BORELLA, 2006).

Na região tubular foram observados a presença de cistos de células grandes (as maiores células encontradas no tecido), com núcleo redondo a ovoide, basofílico, cromatina menos condensada apresentando um a dois nucléolos e citoplasma pouco evidente, que foram identificadas como espermatogônias primárias. Já as espermatogônias secundárias eram células menores em relação às primárias com núcleo mais condensado, redondo a ovoide, com um ou dois nucléolos, corroborando com os achados de (Dias et al., 2017).

Na região intertubular foram observados a presença de vasos sanguíneos, tecido conjuntivo frouxo e células com núcleo esférico ou ovoide e cromatina descondensada e citoplasma acidófilo, reconhecida como células de Leydig (DIAS et al., 2017, VIANA et al., 2022).

As espermatogônias primárias e secundárias foram observadas por toda a região testicular e sempre acompanhadas por células de núcleo com formato esférico ou triangular e alongadas, sendo caracterizadas como células de Sertoli (BATLOUNI, ROMAGOSA, BORELLA, 2006).

Entretanto, não foi possível visualizar células germinativas em diversos estádios de maturação, resultado de uma diferenciação testicular aparentemente mais lenta, resultando no atraso da proliferação das demais células germinativas, diferentemente dos achados de *Prochilodus lineatus* (Dias et al., 2017), no qual os exemplares estavam em idade reprodutiva avançada, podendo ser visualizado todo o processo de espermatogênese.

Braga (1962), por sua vez, concluiu que a maturação em peixes *A. ocellatus* ocorre entre 10 a 12 meses na natureza. Todavia, peixes submetidos a condição de cativeiro necessitam de mais estudos para o melhor entendimento da sua maturação gonadal, visto que fatores ambientais incompatíveis com a espécie, causam estresse crônico, resultando em baixa alimentação, redução da adaptação, dificuldades reprodutivas e suscetibilidade a doenças (URBITINATI et al., 2015).

Os achados morfométricos evidenciaram que as espermatogônias primárias eram as células germinativas que apresentavam maior volume nuclear dentre as células germinativas. Nestas células, o padrão de volume nuclear apresentou um pouco maior do que no estudo realizado utilizando métodos similares em *Prochilodus lineatus* (DIAS et al., 2017). Já as espermatogônias do tipo B apresentaram diâmetro nuclear similar às espécies de peixes de grande porte *Prochilodus lineatus* (DIAS et al., 2017), *Danio rerio* (LEAL et al., 2009), *Oreochromis niloticus* (SCHULZ et al., 2005). Desta forma, as células germinativas podem variar de diâmetros tanto entre espécies diferentes como dentro de um mesmo grupo de espécie (NAGAHAMA, 1983).

Estudos sobre as espermatogônias são de extrema importância para a abertura de novas perspectivas biotecnológicas, impactando tanto em pesquisas atuais como futuras. Transplantes de espermatogônias já são uma realidade em peixes, trazendo novos ganhos para a aquicultura mundial (LACERDA, 2018). Notadamente esses transplantes vem se desenvolvendo em diversas espécies, estudos como o de Lacerda et al. (2010) demonstram a eficiência da técnica com a obtenção do povoamento de espermatogônias nos testículos de receptores de tilápias adultas.

A estereologia visou através da análise das estruturas que compõem o testículo avaliar a proporção volumétrica em porcentagem do compartimento tubular e intertubular. As espermatogônias primárias e secundárias, foram visualizadas com frequência nas extremidades, próximo a túnica albugínea, como também difundida por todo o testículo. Quanto a distribuição das espermatogônias, o testículo pode ser dividido em restrito, irrestrito e intermediário (PARENTI, 2004).

No tipo de distribuição intermediária as espermatogônias primárias apresentam predileção pela túnica albugínea, porém é vista em outras regiões do testículo (LEAL, 2009). Essa distribuição intermediária vista no presente estudo, também foi vista em peixe da mesma ordem Perciforme (VILELA, 2003), como em outras ordens Gadiformes (ALMEIDA, 2008) e Pleuronectiformes (GARCIA-LOPEZ, 2005).

8. CONCLUSÃO

O testículo do peixe *A. ocellatus* apresenta aspectos morfológicos e de componentes testiculares semelhantes aos apresentados por outros teleósteos. Contudo, os peixes nessa idade, demonstram não estar aptos para a reprodução, apresentando IGS baixo e imaturidade testicular. Microscopicamente os testículos foram caracterizados como intermediário, apresentando processo de espermatogênese tardio em comparação com outros teleósteos, não sendo possível visualizar todo processo espermatogênico. As espermatogônias primárias foram identificadas como as maiores células visualizadas nos testículos, seguidas pelas espermatogônias secundárias.

Nesse contexto, o peixe *A. ocellatus* apresenta-se como um excelente modelo para novos estudos relacionados à biotecnologia da reprodução, por possuir uma espermatogênese tardia facilitará no acompanhamento e observação da diferenciação celular durante o desenvolvimento morfológico de suas gônadas por um tempo mais longo. Além disso, a compreensão da biologia reprodutiva dessa espécie, ajudará o desenvolvimento de novos estudos evolutivos em peixes teleósteos e para o melhor desenvolvimento dessa espécie no cenário aquícola.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGULLEIRO, B.; GARCIA-HERNÁNDEZ, M.P.; GARCIA-AYALA, A. Teleost adenohipofise: morfofuncional and developmental aspects. In: Reinecke, M.; Zaccane, G.; Kappor, B, G. **Fish Endocrinology**. Enfield: Science publishers, v. 1, p. 287-323, 2006.
- ALEXANDRINO, A.C.; PHAN, M.T.; PINHEIRO, E.F.G. Caracterização macroscópica e microscópica das gônadas de curimatá, *Prochilodus scrofa* steindachner, 1881, durante o ciclo reprodutivo. **Boletim de Zoologia**, São Paulo, v.9, n. 9, p. 159-175, 1985.
- ALHO, C.J.R. Integração entre Biodiversidade e Aplicação de Pesquisa Científica Resultando em Manejo Para uso Sustentável e Conservação. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 13, n. 1, p. 125-134, 2010. Disponível em: <<https://www.revistarebram.com/index.php/revistauniara/article/view/131>. Acesso em: 6 mar. 2021>.
- ALMEIDA, F.F. et al. Spermatogenesis in Atlantic cod (*Gadus morhua*): a novel model of cystic germ cell development. **Biology of Reproduction**, v. 78, n. 1, p. 27-34, 2008.
- ALVARENGA, E.R.; FRANÇA, L.R. Effects of different temperatures on testis structure and function, with emphasis on somatic cells, in sexually mature nite tilápias (*Oreochromis niloticus*). **Biology of Reproduction**, v.80, n. 3, p. 537-544, 2009.
- ARAÚJO, J.G. et al. Cadeia comercial de peixes ornamentais do Rio Xingu, Pará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, n. 2, p. 297-307, 2017.
- BAERENDS, G.P.; BAERENDS-VAN ROON, J.M. An Introduction to the Study of the Ethology of Cichlid Fishes. **Behaviour**, v. 77, n. 3, p. 199-199, 1981.
- BARROS, N.H.C. et al. Estudos sobre as táticas e as estratégias reprodutivas de sete espécies de peixes de água doce do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Holos**, v. 3, n. 32, p. 84-103, 2016.
- BATLOUNI, S. R.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M. I. The reproductive cycle of male catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium: An approach addressed to aquaculture. **Animal Reproduction Science**, v. 96, n. 1-2, p. 116-132, 2006.
- BLAXTER J.H.S. Sperm storage and cross fertilization of spring and autumn spawning herring. **Nature**, v.172, n. 4391, p.1189-1190, 1953.
- BRAAT, A.K; SPERKSNIJDER, J.E.; ZIVKOVIC, D. Germ line development in fishes. **International Journal of Developmental Biology**, v. 43, n 7, p. 745-760, 1999.
- BRAGA, R.A. Apaiari ou acará-açu, *Astronotus ocellatus ocellatus* Spix. Fortaleza: **DNOCS**, p. 2, 1962.

CARRACA, S.I.S. **Estágio no Oceanário de Lisboa Técnicas de aquarioria em aquários públicos**. 2016. 69 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Biológicos Aquáticos) - Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, 2016. Disponível em : <<https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/93309/2/176638.pdf>> Acesso em: 10 mai. 2021.

CINALLI, R.M.; RANGAN, P.; LEHMANN, R. Germ cells are forever. **Cell**, v. 132, n. 4, p. 559-562, 2008.

DA COSTA, A. A. et al. Morphological characterization of pirarucu *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) gonadal differentiation. **Journal of Morphology**, v. 281, n. 4-5, p. 491-499, 2020.

DA SILVA, M. R.; DE SIQUEIRA, D. H. S.; QUIRINO, P. P.; NINHAUS, S. A.; VERÍSSIMO, S. R. The efficiency of spermatogenesis and the support capacity of Sertoli cells in Characiformes. **Theriogenology**, v. 103, p. 149-152, 2017.

DE FARIA, C. F. A. et al. CARACTERIZAÇÃO DO MERCADO DE AQUICULTURA ORNAMENTAL E AQUARIFILIA NO RIO GRANDE DO NORTE. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 1, p. 203-215, 2019.

DIAS, G.C.D.M. et al. Spermatogonia, Germline Cells, and Testicular Organization in the Characiform *Prochilodus lineatus* Studied Using Histological, Stereological, and Morphometric Approaches. **The Anatomical Record**, v. 300, n. 3, p. 589-599, 2017.

DUDGEON, D. et al. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 81, n. 2, p. 163-82, 2006.

EVANS, D.H.; CLAIBORE, J.B. **The physiology of fishes**. New York: CRC Press, 3. ed., p. 601, 2006.

FARIA, P.M.C. et al. Aquicultura Ornamental: Um mercado promissor. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 26, n. 154, p. 24-37, Março/Abril, 2016. Disponível em: <<https://panoramadaaquicultura.com.br/aquicultura-ornamental-um-mercado-promissor/>>. Acesso em: 20 abr. 2021.

FELDBERG, E.; PORTO, J.I.R.; BERTOLLO, L.A.C. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. In: Val, A. L.; Kapoor, B. G. **Fish Adaptations**. New York: Science Publishers, v. 285, p. 308. 2003.

Fishbase. **Publications scientifiques du Muséum national d'Histoire naturelle**. Caxias do Sul, RS: SBC, 2001. Disponível em: <<https://www.fishbase.se/summary/3612/>>. Acesso em: 12 de abril de 2020.

FONTENELE, O. Contribuição para o conhecimento da biologia do apaiari, *Astronotus ocellatus* (Spix) (Pisces, Cichlidae), em cativeiro. Aparelho de reprodução, hábitos de desova e prolificidade. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 11, n. 4, p. 467-484, 1982.

FONTENELE, O.; NEPOMUCENO, F.H. Exame dos resultados da introdução do *Astronotus ocellatus ocellatus* (Agassiz, 1849), em açudes do Nordeste do Brasil. **Boletim Técnico do DNOCS**, v. 41, n. 1, p. 85-99, 1983.

GARCIA, C.E. et al. Involvement of pituitary gonadotropins, gonadal steroids and breeding season in sex change of protogynous dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Teleostei: Serranidae), induced by a nonsteroidal aromatase inhibitor. **General and Comparative Endocrinology**, v. 192, p. 170-180, 2013.

GARCIA, D.C. et al. **Peces de consumo de la Amazonía peruana**. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Iquitos, Perú, 218 pp.

GARCIA-LOPEZ, U.M.A.; MARTINEZ-RODRIGUEZ, G.; SARASQUETE, C. Sistema reprodutor masculino em linguado senegalês *Solea senegalensis* (Kaup): anatomia, histologia e histoquímica. **Histology Histopathology**. v. 20, p. 1179–1189, 2005.

GRIER, H.J.; R.G. TAYLOR. Testicular maturation and regression in the common snook. **Journal of Fish Biology**, v. 53, n. 3, p. 521-542, 1998.

GRIER, H.J.; LO NOSTRO, F. The teleost germinal epithelium: a unifying concept. In: **International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Bergen**: University of Bergen Press. p. 233-236, 2000.

GRIER H.J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. **The Sertoli Cell**. Clearwater, FL: Cache River Press, p.704-739, 1993.

HONG, Y. et al. Establishment of a normal medaka fish spermatogonial cell line capable of sperm production in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 101, n. 21, p. 8011–8016, 2004.

HONG, Y; SCHARTL, M. Isolation and differentiation of medaka embryonic stem cells. **Embryonic stem cell protocols**. Humana press inc, v. 329, p. 3-16, 2006.

HONJI, R.M.; MOREIRA, R.G Controle neuroendócrino da ovogênese em peixes teleósteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 86-93, 2017.

IPECE. **Cresce para 1,01% a participação do Ceará nas exportações do Brasil**. 2020. Disponível em: <<https://www.seplag.ce.gov.br/2020/02/21/cresce-para-101-a-participacao-do-ceara-nas-exportacoes-do-brasil-melhor-desempenho-em-16-anos/>>
<<https://panoramadaaquicultura.com.br/aquicultura-ornamental-um-mercado-promissor/>>. Acesso em: 24 maio de 2020.

INTERNATIONAL TRADE CENTRE. **International trade in goods statistics by product Imports**. 2001- 2018: fish. Disponível em: <<https://www.intracen.org/itc/market-info-tools/statistics-import-product-country/>>. Acesso em: 18 jan. 2021

KHAIRA, H. et al. Spermatogonial stem cell isolation, andrology lab corner storage, and transplantation. **Journal of Andrology**, v. 26, n. 4, p. 442-450, 2005.

KISE, K. et al. G. Flow-cytometric isolation and enrichment of teleost type-A spermatogonia based on light-scattering properties. **Biology of Reproduction**, v.86, n. 4, p.107, 2012.

KOULISH, S.; KRAMER, C.R.; GRIER, H.J. Organization of the male gonad in a protogynous fish, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: Labridae). **Journal of Morphology**, v. 254, n. 3, p. 292-311, 2002.

LACERDA, S.M.S.N. et al. Germ cells transplantation in fish: the Nile-tilapia model. **Animal Reproduction**, v. 3, n. 2, p. 146-159, 2006.

LACERDA, S.M.N.; BATLOUNI, S.R.; ASSIS, L.H.; RESENDE, F.M.; CAMPOS-SILVA, S.M.; CAMPOS-SILVA, R.; SEGATELLI, T.M.; FRANÇA, L.R. Germ cell transplantation in tilapias (*Oreochromis niloticus*). **Cybio**, v.32, p. 115-118, 2008.

LACERDA, S.M.S.N. et al. An overview of spermatogonial stem cell physiology, niche and transplantation in fish. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 4, p. 798-88, 2018.

LACERDA, S.M.S.N.; BATLOUNI, S.R.; COSTA G.M.J.; SEGATELLI, T.M.; QUIRINO, R.; QUEIROZ, B.M.; KALAPOTHAKIS, E.; FRANÇA, L.R. A new and fast technique to generate offspring after germ cells transplantation in adult fish: The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) model. **Plos One**, v. 5, n. 5 p. 1-9, 2010.

LACERDA, S.M.S.M.; COSTA, G.M.J.; SILVA, M.A. CAMPOS, JR., P. H. A.; SEGATELLI, T.M.; PEIXOTO, T.D.; RESENDE, R.R; FRANÇA, L. R. Phenotypic characterization and *in vitro* propagation and transplantation of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) spermatogonial stem cells. **General and Comparative Endocrinology**, v. 192, p. 95-106, 2013.

LEAL, C. M. et al. Histological and stereological evaluation of zebrafish (*Danio rerio*) spermatogenesis with an emphasis on spermatogonial generations. **Biology of Reproduction**, v. 81, n. 1, p. 177-187, 2009.

LEE, S.; IWASAKI, Y.; SHIKINA, S.; YOSHIZAKI, G. Generation of functional eggs and sperm from cryopreserved whole testes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 5, p. 1640-1645, 2013.

LEVAVI-SIVAN, B.; BOGERD, J.; MAÑANÓS, E.L.; GÓMEZ, A.; LAREYRE, J.J. Perspectives on fish gonadotropins and their receptors. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3 p. 412-437, 2010.

MACHADO, F. A. **Comportamento e hábitos alimentares de quatro espécies de Cichlidae (Teleostei) no Pantanal matogrossense**. 1983. 83 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1983.

- MAJHI, S.K.; HATTORI, R.S.; YOKOTA, M.; WATANABE, S.; STRÜSSMANN, C.A. Germ cell transplantation using sexually competent fish: an approach for rapid propagation of endangered and valuable germ lines. **Plos One**, v. 4, n. 7, 2009.
- MANNING, M.J.; NAKANISHI, T. The specific immune system: cellular defences. **The Fish Immune System**, Academic Press, New York, p. 159-205, 1996.
- MANSUR, V.F.R. Identificação do sexo do ornamental amazônico *Astronotus ocellatus* (AGASSIZ, 1831), por meio de videoceloscopia e biopsia gonadal. **Ciência da Reprodução Animal**, v. 230, p. 57-57, 2018.
- MENEZES, R.S. O apaiari nos açudes do Nordeste do Brasil. **Chácaras e Quintais**, São Paulo, v. 84, n. 3, p. 305-307, 1951.
- MOLYNEAUX, K.; WYLIE, C. Primordial germ cell migration. **International Journal of Developmental Biology**, v. 48, n. 5–6, p. 537–543, 2004.
- MUUSZE, B. MARCON, J.; VAN DEN THILLART, G.; ALMEIDA-VAL, V. Hypoxia tolerance of Amazon fish. Respiratory and energy metabolism of the cichlid *Astronotus ocellatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: molecular and integrative physiology**, v. 120, n. 1, p. 151-156, 1998.
- NAGAHAMA, Y. 6 The functional morphology of teleost gonads. In. **Fish physiology**. New York: Academic press, v. 9, p. 223-264, 1983.
- NELSON J.S. **Fishes of the World**, 3. ed. New York, John Wiley; Sons, p.523, 1994.
- NELSON, S. J.; GRANDE, C. T.; WILSON, V.H. M. **Fishes of the World**. John Wiley & Sons, 2016.
- NETO, P.G.B. et al. Crescimento de juvenis do apaiari alimentados com diferentes níveis de relação energia: proteína. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 2, n. 3, 2013.
- NOBREGA, R. H. **Capacidade suporte das células de Sertoli e alterações do epitélio germinativo masculino e do tecido intersticial durante o ciclo reprodutivo de peixes neotropicais**. Monografia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003. Disponível em:
<<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/127781/000844259.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 01 de maio de 2020.
- NÓBREGA, R.H.; BATLOUNI S.R.; FRANÇA L.R. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.35, n.1, p. 197-206, 2009.
- NÓBREGA, R. H.; GREEBE, C. D.; VAN DE KANT, H.; BOGERD, J.; DE FRANÇA, L. R.; SCHULZ, R. W. Spermatogonial stem cell niche and spermatogonial stem cell transplantation in zebrafish. **Plos One**, v. 5, n. 9, p.12808, 2010.

NÓBREGA, R.H.; LO NOSTRO, F.L.; GRIER, H. J.; QUAGIO, G, I. Cellular proliferation in fish male germinal epithelium. In: International Symposium on. **Animal Biology of Reproduction**, v. 3, p. 199, 2006.

OKUTSU T.; SHIKINA S.; KANNO M.; TAKEUCHI Y.; YOSHIKAZI G. Production of trout offspring from triploid salmon parents. **Science**, v. 317, n. 5844, p. 1517, 2007.

OKUTSU, T.; SUZUKI, K.; TAKEUCHI, Y.; TAKEUCHI, T.; YOSHIKAZI, G. Testicular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional eggs in fish. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, v. 103, n. 8, p. 2725-2729, 2006.

PANDA, R.P.; BARMAN, H.K.; MOHAPATRA, C. Isolation of enriched carp spermatogonial stem cells from Labeo rohita testis for in vitro propagation. **Theriogenology**, v.76, n. 2, p. 241–251, 2011.

PARENTI, R. L; GRIER, J. H. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. **Integrative and comparative biology**, v. 44, n. 5, p. 333-348, 2004.

PASCHOALINI, A. L. et al. **Potencial estrogênico de metais pesados, xenoestrógenos e estrógenos naturais em peixes neotrópicos em condições naturais e experimentais**. 2019. 63 p. Tese (Doutorado em Biologia Celular)- Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/35356/1/TESE%20Vers%C3%A3o%20final%20colegiado%20-%20POTENCIAL%20ESTROG%C3%A9NICO%20DE%20METAIS%20PESADOS%20C%20XENOESTR%C3%93GENOS%20E%20ESTR%C3%93GENOS%20NATURAIS%20EM%20PEIXES%20NEOTROPICAIS.pdf>>. Acesso em: 15 agost. 2021.

PASSINI, G. et al. **Aspectos reprodutivos do robalo-flecha, Centropomus undecimalis, durante a primeira maturação sexual**. 2017. p. 78. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

PINTO, P.; M.; HILTON, N. F. On the reproduction in captivity of the oscar, *Astronotus ocellatus* (Cuvier) according to the mating methods (Pisces-Cichlidae). **Amazoniana**, v. 10, n. 4, p. 361-377, 1989.

PLOEG, A. Trade-the status of the ornamental aquatic industry. **Ornamental Fish International (OFI)**, v. 72, p. 11-13, 2013.

PUDNEY, J. Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. **Microscopy research and technique**, v. 32, n. 6, p. 459-497, 1995.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R. Gametogênese em peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 181- 191. 2013.

RAZ, E.; HOPKINS, N. Primordial germ-cell development in zebrafish. In: **Pattern formation in zebrafish**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2002. p. 166-179, 2002.

RIBEIRO, M. Y. et al. Biomarker responses induced by bisphenol A on spermatogenesis in a Neotropical teleost fish are temperature-dependent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 224, p. 112670, 2021.

RIBEIRO, F. D. A. S. **Panorama da Agricultura**. Panorama mundial do mercado de peixes ornamentais. 2008. Disponível em:

<<https://panoramadaaquicultura.com.br/panorama-mundial-do-mercado-de-peixes-ornamentais/>>. Acesso em: 10 maio de 2020.

ROBINS, H. R. *Astronotus ocellatus*. **Florida museum**. 2017. Disponível em:

<<https://www.floridamuseum.ufl.edu/discover-fish/species-profiles/astronotus-ocellatus/>>. Acesso em: 16 outubro de 2021.

ROCHA, M. J.; ROCHA, E. Morphofunctional aspects of reproduction from synchronous to asynchronous fishes-An overview. **Fish endocrinology**, v. 2, p. 571-624, 2006.

RODRIGUEZ-SOSA. J. R.; DOBSON, H.; HAHNEL, A. Isolation and transplantation of spermatogonia in sheep. **Theriogenology**, v. 66, n. 9 p. 2091–2103, 2006.

SAITO T.; GOTO-KAZETO R.; FUJIMOTO T.; KAWAKAMI Y.; ARAI K.; YAMAHA E. Inter-species transplantation and migration of primordial germ cells in cyprinid fish. **International Journal of Developmental Biology**, v. 54, n. 10, p. 1481-1486, 2010.

SAMPAIO, C.L.S.; NOTTINGHAM, M.C. **Guia para identificação de peixes ornamentais brasileiros: espécies marinhas: volume 1**. Ibama, p. 205, 2008.

SANTOS, A. J. G.; SILVA, A. L. N. Biotecnologia em aquicultura: Processos, riscos e cuidados. Ênfase à produção de tilápias. **Panorama aquicultura**, v.8, n. 45, p. 22-26 1998.

SANTOS, E. **Pesca e piscicultura**. Belo Horizonte: Itatiaia, p. 212, 1977.

SANTOS, G.M.; FERREIRA, E.J.G.; VAL, A.L. Recursos pesqueiros e sustentabilidade na amazônica: fatos e perspectivas. **Revista do Direito Ambiental da Amazônia**, v. 8, n. 1, p. 43-77, 2010.

SASAKI, T.; WATANABE, A.; TAKAYAMA-WATANABE, E.; SUZUKI, M.; ABRE, H.; ONITAKE, K. Ordered progress of spermiogenesis to the fertilizable sperm of the medaka fish, *oryzias latipes*, in cell culture. **Development growth differentiation**, v. 47, n. 2, p. 87-97, 2005.

SCHULZ RW, MENTING S, BOGERD J, FRANÇA LR, VILELA DAR, GODINHO HP. Proliferação de células de Sertoli no testículo adulto – evidência de duas espécies de peixes pertencentes a ordens diferentes. **Biol Reprod.** v. 73, p. 891 – 898, 2005.

SCHULZ R.W.; FRANÇA L.R.; LAREYRE J.J.; LEGAC F.; CHIARINI, G. H.; NOBREGA R.H.; MIURA T. Spermatogenesis in fish. **General and Comparative Endocrinol**, v.165, n. 1, p. 390-411, 2010.

SCHULZ R. W.; NÓBREGA R. H. **ANATOMY AND HISTOLOGY OF FISH TESTIS**. IN: FARRELL A.P., Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment, San Diego: Academic Press, v.1, p. 616–626, 2011

SHIKINA, S.; IHARA, S.; YOSHIZAKI, G. Culture Conditions for maintaining the survival and Mitotic Activity of rainbow trout transplantable type A spermatogonia. **Molecular reproduction and development**, v. 75, n. 3, p. 529-537, 2008.

SHIKINA, S.; YOSHIZAKI, G. Improved *in vitro* culture conditions to enhance the survival, mitotic activity, and transplantability of rainbow trout type A spermatogonia. **Biology of reproduction**, v. 83, n. 2 p. 268-276, 2010.

SLANINOVA, A.; SMUTNA, M.; MODRA, H.; SVOBODOVA, Z. Reviews Oxidative stress in fish induced by pesticides. **Neuroendocrinology Letters**, v. 30, n. 1, p. 2, 2009.

SILVA, J. W. B.; REGIS, R. C.; BEZERRA, A. T. Produção de alevinos de apaiari, *Astronotus ocellatus ocellatus* (Cuvier, 1829) Swainson, 1839, em viveiros. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 24, n. 1-2, p. 22 – 26, 1993.

SOBJAK, T. M.; ROMÃO, S.; NASCIMENTO, C. Z. D.; SANTOS, A. F. P. D.; VOGEL, L.; GUIMARÃES, A. T. B. Assessment of the oxidative and neurotoxic effects of glyphosate pesticide on the larvae of *Rhamdia quelen* fish. **Chemosphere**, v. 182, p. 267–275, 2017.

SOUTO, C. N.; FARIA, T. M. de.; OLIVEIRA, H. F de.; ROSA, R. M.; SILVA, L. A. S.; CAMPOS, M. A. F. Visão geral sobre reprodução de peixes teleósteos: da anatomia à sinalização molecular. **PUBVET**, v. 11, n. 11, p. 1175-1187, 2017.

SOUZA, U.N.; FELIZARDO, V. O.; FREITAS, R. T. F.; MELO, C. C. V.; FERREIRA, M. R.; REIS, N., R. V. Influência do horário de aplicação e da variedade genética em fêmeas de tilápias *Oreochromis niloticus* submetidas à indução hormonal com hCG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n.1, p.215-223, 2016.

TAKEY, Y.; LORETZ, C. A. endocrinology. in: EVANS, D. H.; CLAIBORNE, J. B. **The physiology of fish**, 3. ed., New York: Taylor; Francis Group, p. 271-318, 2006.

TAKEUCHI, Y.; YOSHIZAKI, G.; TAKEUSHI, T. Surrogate broodstock produces salmonids. **Nature**, v. 430, n. 7000, p. 629- 630, 2004.

TAKEUCHI, Z.; YOSHIZAKI, G. TAKEUCHI, T. Generation of live fry from intraperitoneally transplanted primordial germ cells in rainbow trout. **Biology of Reproduction**. 69, n. 4, p. 1142-1149, 2003.

TECHSCI RESEARCH. **Global Ornamental Fish Market By Type (Tropical Fresh Water, Temperate Fresh Water & Marine Ornamentals), By Point of Sale (Dedicated Stores, Multi-Specialty stores, Online and Others) Competition Forecast & Opportunities**. New York, [2017]. Disponível em:

<<https://www.techsciresearch.com/report/ornamental-fish-market/4751.html>>. Acesso em: 10 jan. 2021.

TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Oocyte growth and development in teleosts. **Reviews in fish biology and fisheries**, v. 6, n. 3, p. 287-318, 1996.

URBINATI, E. C.; ZANUZZO, F. S.; SERRA, M.; WOLKERS, C. P. B.; SABIONI, R. E. Avanços da fisiologia do estresse e suas implicações em espécies nativas. In: Tavares-Dias, M.; Mariano, W.S. (Org.). **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. São Carlos, Editora Pedro e João, p. 381- 416, 2015.

VAGNER, M. ; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; MAZURAS, D. Peixes enfrentando mudanças globais: os estágios iniciais são a tábua de salvação. **Pesquisa Marinha Ambiental**, v. 147, p. 159 - 178, 2019.

VAZZOLER, A. E. A. M. et al. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Eduem, v. 169, 1996.

VIDAL JR., M.V. Peixes ornamentais: reprodução em aquicultura. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 79, n. 1, p. 22-27, 2003.

VIEIRA, MARIANA DUARTE DOS SANTOS. Acondicionamento, Manutenção e Expedição de Animais Ornamentais Marinhos na Empresa TMC Ibéria. 2021. Tese de Doutorado.

VILELA, D. A. R. et al. Spermatogenesis in teleost: insights from the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) model. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 28, n. 1, p. 187-190, 2003.

WABNITZ, C.; TAYLOR, M.; GREEN, E.; RAZAK, T. **From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species**. UNEP-WCMC, p. 64, 2003.

WETHERINGTON, J. **Introduction to Biotechnology: A Georgia Teachers Resource Manual**, p.87, 2010.

WEBB, A.; MAUGHAN, M.; KNOTT, M. **Pest fish profiles**. *Astronorus ocellatus* – Oscar. James Cook: ACTFR, p. 3, 2007.

WISCHRAL, A.; GOMES FILHO, M.; A. Aplicações da biologia molecular na reprodução animal. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 6, p. 59-63, 2009.

YASUI, G. S.; FUJIMOTO, T.; ARAI, K. Restoration of the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*, from cryopreserved diploid sperm and induced androgenesis. **Aquaculture**, v. 308, p. 140-S144, 2010.

YOSHIZAKI, G.; LEE, S. Production of live fish derived from frozen germ cells via germ cell transplantation. **Stem Cell Research**, v. 29, p. 103-110, 2018.

YOSHIZAKI, G.; ICHIKAWA, M.; HAYASHI, M.; IWASAKI, Y.; MIWA, M.; SHIKINA, S.; OKUTSU, T. Sexual plasticity of ovarian germ cells in rainbow trout. **Development**, v. 137, p. 1227–1230, 2010.

YOSHIZAKI, G.; FUJINUMA, K.; IWASAKI, Y.; OKUTSU, T.; SHIKINA, S.; YAZAWA, R.; TAKEUCHI, Y. Spermatogonial transplantation in fish: a novel method for the preservation of genetic resources. *Comp. Biochem. Physiol.* v. 6, p. 55–61, 2011.

ZACCONE, G.; KAPPOR, B. G. **Fish endocrinology**. Enfield: Science publishers, v.2, p. 817, 2006.

ZOHAR, Y.; MUÑOZ-CUETO, J.; ELIZUR, A.; KAH, O. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. **Gen Comp Endocrinol**, v. 165, p. 438-455, 2010.