

Alterações sazonais hepáticas em *Salminus maxillosus* em ambiente natural

Renata Guimarães MOREIRA¹, Rossana Luiza Leite VENTURIERI¹,
Geraldo BERNARDINO² & Olga Martins MIMURA¹

RESUMO

O presente trabalho aborda aspectos histológicos hepáticos em *Salminus maxillosus*, investigando possíveis alterações relacionadas ao ciclo reprodutivo. O tecido hepático foi descrito com organização semelhante à da maioria dos teleósteos, evidenciando-se a presença do hepatopâncreas. A metodologia histológica utilizada solubilizou os lipídios hepáticos e os resultados indicam que as fêmeas em Repouso e os machos Maduros apresentam os hepatócitos pouco corados, provavelmente devido ao grande acúmulo de lipídios, enquanto as fêmeas maduras e os machos em Repouso apresentam os hepatócitos fortemente corados, devido ao baixo conteúdo de lipídios. Os resultados demonstram o papel metabólico do fígado na fisiologia reprodutiva desse animal.

Palavras-chave: *Salminus maxillosus*; Fígado; Histologia; Ciclo Reprodutivo; Lipídios.

ABSTRACT

Seasonal hepatic alterations in wild *Salminus maxillosus*

This study deals with the liver histology of *Salminus maxillosus* during the spawning cycle. The liver histological organization is very similar with other teleost liver, observing the presence of the hepatic pancreas. Methodological solubilization of hepatic lipids, justified that, in Mature males and Resting females, hepatic cells are vacuolated, probably on account of their high lipid content, whereas Resting males and Mature females showed these cells strongly stained, probably due to their lower lipid content. The results give evidence of the liver metabolic role in the reproductive physiology of *Salminus maxillosus*.

Key words: *Salminus maxillosus*; Liver; Histology; Reproductive Cycle; Lipids.

1. Departamento de Fisiologia – IB/USP, Rua do Matão, Trav. 14, nº 321, CEP 05508-900, São Paulo, SP, Brasil.

2. CEPTA/IBAMA, C. P. 64, CEP 13630-970, Pirassununga, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO

O fígado é considerado um importante órgão de reserva energética, podendo sofrer variações de peso e/ou ainda estruturais que podem ser relacionadas ao crescimento, temperatura ambiental, controle endócrino e maturação gonadal, dentre outras variáveis.

Assim como na maioria dos vertebrados, nos peixes, as células hepáticas apresentam muitas funções vitais além da secreção biliar, tendo papel importante no metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos. Além disso, o fígado é um órgão envolvido nos processos de desintoxicação do organismo e na hematopoiese durante a fase larval, e é, ainda, responsável pela produção de anticorpos (Hibiya, 1982). É o órgão responsável pelo armazenamento da maior quantidade de carboidrato nos peixes, sendo também fonte primária de glicose sanguínea após a alimentação dos animais. Alterações nas concentrações de glicogênio hepático são mais freqüentemente observadas em peixes expostos a agentes estressantes de origem química ou física (Heath, 1995).

O tamanho dos hepatócitos pode refletir seu estado fisiológico, como ocorre no processo de vitelogênese. Em fêmeas de *Onchorynchus masou* e *Plecoglossus altivelis*, nos períodos mais ativos da vitelogênese, núcleos e nucléolos dos hepatócitos apresentam-se hipertrofiados (Hibiya, 1982).

Em 1957, Bailey, estudando *Carassius auratus*, já havia observado que a indução pelo estradiol em fêmeas causava hipertrofia das células hepáticas, sugerindo que esse órgão estaria sintetizando intensamente vitelogenina, que estaria sendo prontamente liberada para a corrente sanguínea para atuar nos ovários.

Os lipídios, a principal fonte de reserva energética dos peixes, são geralmente armazenados no fígado, tecido adiposo ou músculos e são mobilizados em resposta a necessidades energéticas, especialmente para suprir a demanda de crescimento, manutenção e reprodução. Desta forma, os níveis de lipídio armazenado se alteram significativamente ao longo do tempo entre os indivíduos e populações, em resposta às necessidades energéticas (Meffe & Snelson, 1993).

Alterações sazonais no armazenamento de água, lipídio e proteína nos músculos e fígado já foram observadas em várias espécies de peixes, e estas alterações têm sido relacionadas ao crescimento das gônadas e a outros processos associados à desova (Love, 1980; Dawson & Grimm, 1980; Dabrowski, 1982; Muñoz & Herrera apud Merayo, 1996).

Nos peixes, os lipídios são fontes energéticas importantes para reprodução, sendo imprescindíveis para o desenvolvimento dos ovos, construção de ninhos, côrte ou, ainda, proteção da prole (Wiegand, 1996).

MATERIAL E MÉTODOS

A espécie eleita para o presente trabalho foi o dourado (*Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840) (Pisces: Characiformes: Characidae), caracídeo de alto valor comercial como peixe de consumo e muito procurado na pesca esportiva. É uma espécie reofílica de grande porte, hábito alimentar essencialmente ictiófago e com registros de peso chegando a até 20 kg (Morais-Filho & Schubart, 1955). Apesar do hábito alimentar ictiófago, recentes trabalhos mostram ser possível adaptar essa espécie a condições de criação em cativeiro, com o uso de alimentação artificial balanceada, apresentando níveis satisfatórios de crescimento (Borghetti et al., 1990a,b).

Fêmeas (67) e machos (22) adultos de *Salminus maxillosus* foram capturados com tarrafa no rio Mogi-Guaçu, no município de Pirassununga/SP, entre outubro de 1995 e abril de 1998.

Esses animais foram capturados por funcionários do CEPTA/IBAMA (Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais/Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e transferidos para os laboratórios desse Centro, onde foram colocados em tanques de fibra de vidro com cerca de 3.000 litros de água corrente.

Os animais foram sacrificados por secção da medula espinhal na altura do opérculo, tendo seus dados morfométricos e ponderais determinados. Em seguida foi aberta a cavidade abdominal para retirada do fígado e das gônadas. O fígado foi pesado em balança de precisão com sensibilidade de 0,001 g, e a partir do seu peso foi determinado o índice hepatossomático (IHS), que expressa a porcentagem que o fígado representa em relação ao peso total do animal.

As gônadas foram analisadas quanto a seu aspecto macroscópico (tamanho, cor, vascularização, estágio de maturação) e retiradas e pesadas em balança de precisão para o cálculo do índice gonadossomático (IGS), que expressa a porcentagem que as gônadas representam em relação ao peso total do animal.

Amostras do terço médio do fígado, de aproximadamente 1 cm, foram fixadas em bouin acético por um período de 18 horas. Em seguida, as peças foram transferidas para álcool etílico 70°GL, no qual permaneceram até o processamento histológico.

Para a confecção das preparações microscópicas foram empregadas técnicas usuais de desidratação em álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina. As peças foram cortadas em micrótomo, obtendo-se cortes com 6 µm de espessura que foram corados pelo método da Hematoxilina-Eosina (HE), sendo analisados em microscopia de luz.

A análise histológica do fígado visou avaliar as possíveis alterações do tecido hepático em função do sexo e do ciclo reprodutivo.

De acordo com os valores de IGS e as observações macroscópicas, as fêmeas foram classificadas em 4 estádios de desenvolvimento gonadal, Repouso, Maturação Inicial, Maturação Avançada e Maduro, e os machos, em 3 estádios, Repouso, Maturação e Maduro. Para o dourado, esses estádios foram determinados segundo Lima et al. (1986), com pequenas modificações (Tabela I).

TABELA I Dados morfométricos e ponderais de *Salminus maxillosus* coletados entre outubro de 1995 e abril de 1998. Valores mínimo e máximo.

Sexo	Estádios	N	Comprimento total (cm)	Peso total (kg)	Peso das gônadas (g)	Peso do fígado (g)
Fêmeas	Repouso	46	48,5-75,0	1,34-6,00	3,22-3,16	6,24-52,55
	M. inicial	08	51,0-84,0	1,68-7,64	17,79-87,00	11,39-42,50
	M. avançada		50,0-75,0	1,68-6,40	38,27-192,33	11,59-46,80
	Madura	06	62,0-87,0	3,80-10,20	196,75-1600,00	20,00-45,50
Machos	Repouso	06	44,5-56,0	1,18-2,20	0,73-2,98	5,99-14,67
	Maturação	07	44,0-65,0	1,15-3,70	6,90-25,93	4,40-15,40
	Maduro	09	45,0-62,0	1,10-3,20	13,54-76,05	4,00-19,94

Os valores de IGS e IHS para machos e fêmeas nos diferentes estádios de maturação foram analisados estatisticamente utilizando a Análise de Variância (ANOVA) e o teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

RESULTADOS

Em relação ao índice hepatossomático (IHS), os dados mostram que houve pouca variação (não significativa) ao longo do ciclo reprodutivo tanto para machos quanto para fêmeas.

Como o objetivo do presente trabalho foi avaliar as alterações hepáticas ao longo do ciclo reprodutivo, optou-se por não analisar animais jovens. Animais com as gônadas no estágio de Regressão foram coletados em pequena quantidade, o que impossibilitou análise estatística adequada. Assim, esse estágio do ciclo não está sendo considerado.

Os valores médios encontrados para o IHS em cada sexo/estádio estão apresentados na Tabela II. Fêmeas em Repouso apresentaram IHS médio de $0,631 \pm 0,032$ e fêmeas na fase de Maturação Inicial, de $0,583 \pm 0,055$. Na fase de Maturação Avançada, o IHS médio foi de $0,637 \pm 0,066$ e, em fêmeas maduras, de $0,666 \pm 0,105$.

TABELA II Índice gonadosomático (IGS) e hepatossomático (IHS) de *Salminus maxillosus* (média \pm erro-padrão).

Sexo	Estádios	N	IGS*	IHS
Fêmeas	Repouso	46	0,386 \pm 0,019	0,631 \pm 0,032
	M. inicial	8	0,881 \pm 0,112	0,583 \pm 0,055
	M. avançada	7	2,913 \pm 0,337	0,637 \pm 0,066
	Madura	6	8,235 \pm 1,701	0,666 \pm 0,105
Machos	Repouso	6	0,107 \pm 0,029	0,518 \pm 0,086
	Maturação	7	0,715 \pm 0,033	0,467 \pm 0,055
	Maduro	9	1,291 \pm 0,163	0,478 \pm 0,052

*Todos os valores são significativamente diferentes dentro de cada sexo ($P < 0,05$).

Os machos em Repouso apresentaram IHS médio de $0,518 \pm 0,086$; na fase de Maturação, o valor médio foi de $0,467 \pm 0,055$ e, na fase Madura, de $0,478 \pm 0,052$.

Os valores de IGS de machos e fêmeas apresentaram aumento significativo à medida que avançava a maturação. Para os machos, o incremento no IGS não é tão acentuado quanto para as fêmeas, mas as diferenças entre os valores ao longo dos estádios são significativas (Tabela II).

As fêmeas apresentaram, no estágio de Repouso, IGS médio de $0,386 \pm 0,019$ e, na fase de Maturação Inicial, de $0,881 \pm 0,112$. Na fase de Maturação Avançada, o IGS médio foi de $2,913 \pm 0,337$, sendo que fêmeas Maduras apresentaram IGS médio de $8,235 \pm 1,701$.

Os machos apresentaram IGS no estágio de Repouso variando de 0,052 a 0,230; no estágio de Maturação, esses valores se elevaram para 0,600 a 0,824 e, quando maduros, o IGS variou de 0,800 a 2,377.

No dourado, o fígado é formado por 3 lobos de cor avermelhada e representa cerca de 0,6% do peso total do corpo do animal. É revestido externamente por camada de tecido conjuntivo semelhante à cápsula de Glisson de mamíferos (Fig. 1). Internamente, o órgão é preenchido por células epiteliais chamadas de células hepáticas ou hepatócitos, que formam o parênquima hepático.

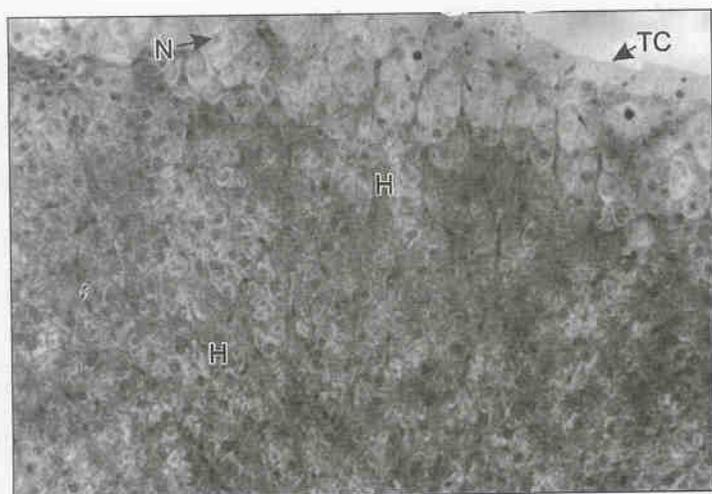


Fig. 1 – *Salminus maxillosus*: tecido conjuntivo (TC), região externa (*), núcleo (N), camada interna de hepatócitos (H), grânulos de glicogênio (setas) (H.E.). Aumento: 1.270X.

Em *Salminus maxillosus*, o parênquima é subdividido em duas zonas: a mais externa formada por 2 ou 3 camadas de células, situada logo abaixo da cápsula, e a mais interna que constitui o parênquima propriamente dito.

A região mais externa caracteriza-se pela presença de células grandes (cerca de 2 ou 3 vezes maiores que os demais hepatócitos), ovaladas, dispostas em 2 ou 3 camadas que envolvem praticamente toda a superfície do fígado. Essas células têm citoplasma vacuolizado, núcleo menos corado que o dos demais hepatócitos e um nucléolo visível. Podemos ainda observar alguns grânulos, possivelmente de glicogênio (Fig. 1).

O parênquima hepático da camada mais interna é formado por hepatócitos que se dispõem formando cordões, compreendendo geralmente 2 camadas de células entre os sinusóides (Fig. 2). Os hepatócitos são células poligonais, arredondadas, de núcleo geralmente único e nucléolo bem visível (Fig. 3). O citoplasma apresenta-se mais ou menos vacuolizado, dependendo do sexo e estágio do ciclo reprodutivo. Assim, citoplasma vacuolizado é encontrado em machos maduros e fêmeas em repouso (Fig. 2). Já fêmeas maduras e machos em repouso mostram citoplasma corado com poucos vacúolos (Fig. 4). A vacuolização se deve à metodologia empregada nos processos de desidratação (álcool) e diafanização (xilol) para a preparação dos cortes histológicos, solubilizando o conteúdo lipídico dos hepatócitos.

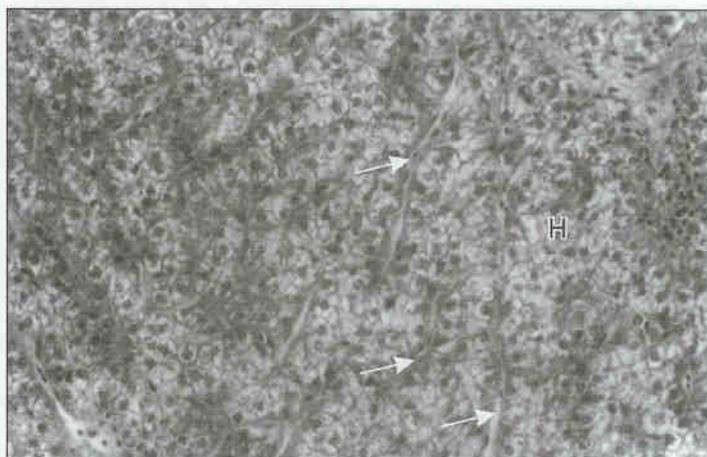


Fig. 2 – *Salminus maxillosus*: fêmea em Repouso: hepatócitos vacuolizados (H) e sinusóides (setas) (H.E.). Aumento: 1.110X.

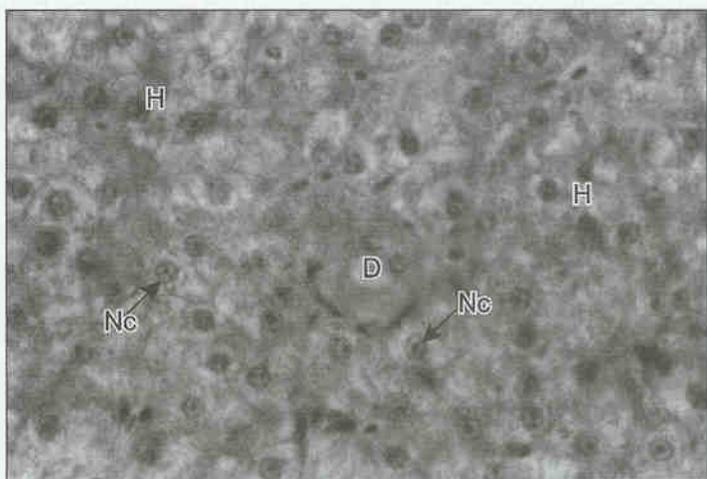


Fig. 3 – *Salminus maxillosus*: hepatócitos (H), núcleo (N), nucléolo (Nc) e ducto biliar (D) (H.E.). Aumento: 2.660X.

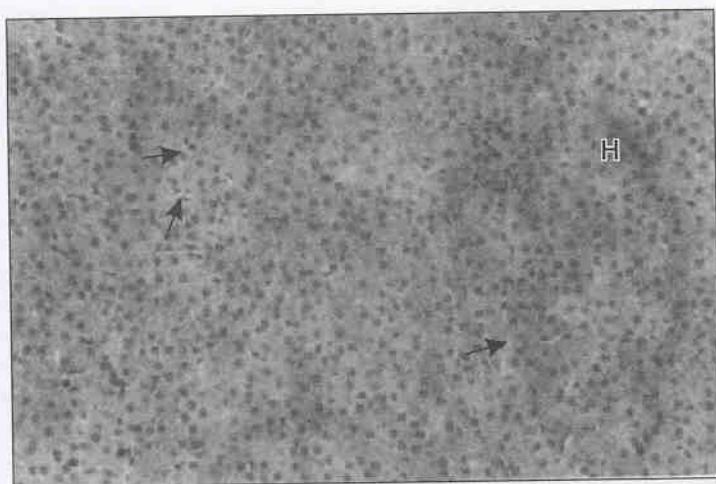


Fig. 4 – *Salminus maxillosus*: macho em Repouso: hepatócitos com citoplasma corado (H) e sinusóides (setas) (H.E.). Aumento: 1.060X.

Os hepatócitos dispostos em cordões delimitam canalículos biliares. No parênquima encontram-se ramificações da veia porta, da artéria hepática e vários ductos biliares formados por epitélio cúbico, circundado por tecido conjuntivo. Esses ductos se encontram geralmente nas proximidades das ramificações da veia porta (Fig. 5 e 6).



Fig. 5 – *Salminus maxillosus*: parênquima hepático (H), veia (V), ducto biliar (D) e glóbulos de gordura (G) (H.E.). Aumento: 530X.

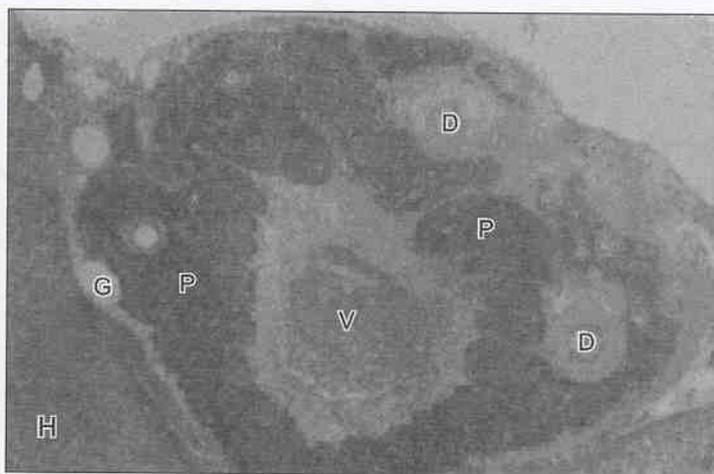


Fig. 6 – *Salminus maxillosus*: parênquima hepático (H), tecido pancreático exócrino (P), veia (V), glóbulos de gordura (G) e ductos pancreáticos (D) (H.E.). Aumento: 270X.

Em alguns animais constatou-se a presença de tecido adiposo no parênquima hepático ou externamente separando este do tecido pancreático externo (Figs. 5 e 6). Não foram identificadas as tríades portais (ramificações da veia porta, artéria hepática e ducto biliar) além de melano-macrófagos associados ao parênquima hepático. É observado, com certa frequência, tecido linfático (Fig. 7).

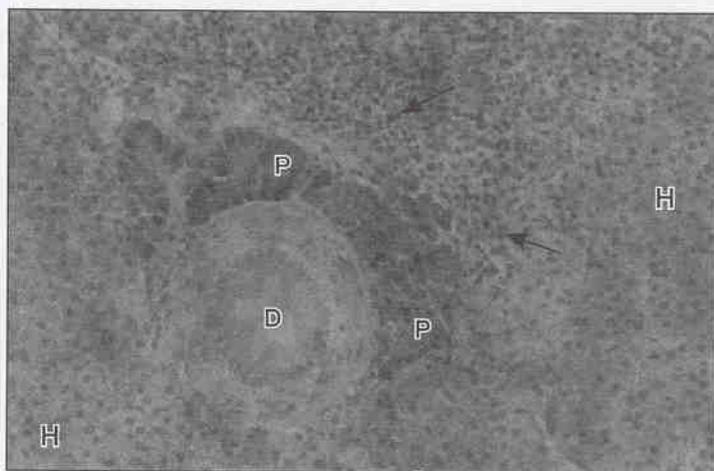


Fig. 7 – *Salminus maxillosus*: parênquima hepático (H), tecido pancreático exócrino (P), linfócitos (setas) e ducto pancreático (D) (H.E.). Aumento: 1.060X.

Tecido pancreático exócrino é encontrado esparsadamente ao redor da parede externa do fígado associado à veia porta (Fig. 6). Esse tecido pode invadir o parênquima hepático formando um hepatopâncreas (Fig. 7).

Os ácinos pancreáticos são formados por um número variável de células piramidais, com núcleo arredondado situado no pólo basal celular e numerosos grânulos eosinófilos de zimógeno na região apical (Fig. 8 e 9). Entre os ácinos observam-se ductos interacinares formados por células cúbicas de núcleo basal e algumas células menores com núcleo apical (Fig. 9). Ductos pancreáticos também são encontrados no tecido pancreático e/ou no parênquima hepático (Fig. 6 e 7).

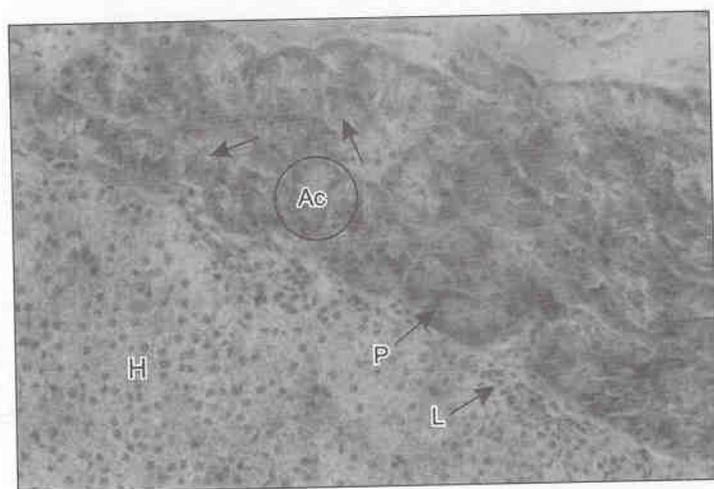


Fig. 8 – *Salminus maxillosus*: parênquima hepático (H), tecido pancreático exócrino (P), ácinos pancreáticos (Ac) com grânulos de zimógeno (setas) e linfócitos (L) (H.E.). Aumento: 1.060X.

O tecido pancreático endócrino é representado pelas ilhotas de Langerhans; estas são envolvidas por fibras reticulares muito finas que separam o tecido endócrino do exócrino (Fig. 10). As células endócrinas têm disposição aleatória no interior da ilhota, em contato com capilares, não sendo possível identificar cordões celulares característicos das glândulas endócrinas.

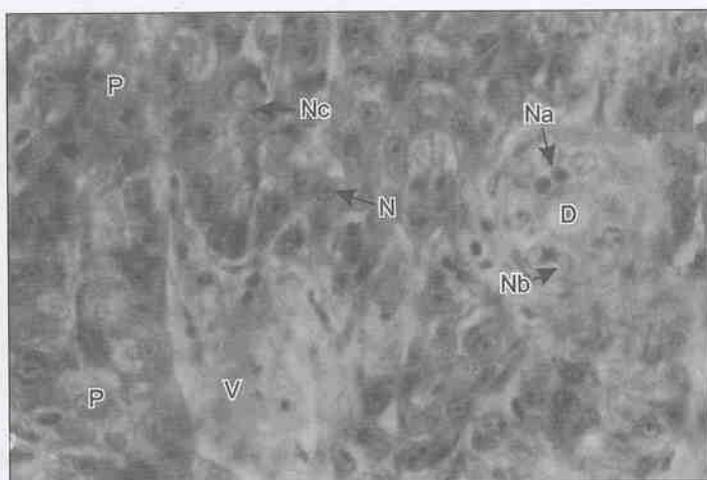


Fig. 9 – *Salminus maxillosus*: tecido pancreático (P), núcleo (N), nucléolo (Nc), veia (V), ducto interacinar (D) com células cúbicas com núcleo basal (Nb) e células menores com núcleo apical (Na) (H.E.). Aumento: 2.660X.

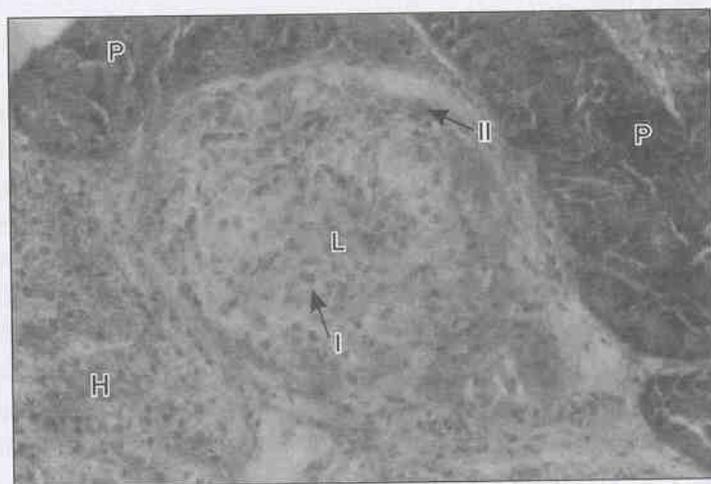


Fig. 10 – *Salminus maxillosus*: parênquima hepático (H), tecido pancreático exócrino (P), ilhota de Langerhans (L) com núcleos de células do tipo 1 (I) e tipo 2 (II) (H.E.). Aumento: 1.060X.

Dois tipos celulares podem ser identificados na ilhota: as células chamadas aqui de tipo 1 e de tipo 2. As células do tipo 1 são mais numerosas, pequenas, com forma cúbica, citoplasma pouco evidente e núcleo com cromatina esparsa e nucléolo pouco visível. As células do tipo 2 são maiores, com citoplasma mais evidente, homogêneo e de forma alongada; núcleo ovalado; nucléolo visível (Fig. 10).

DISCUSSÃO

Assim como ocorre na maioria das espécies de teleósteos (Hibiya, 1982), o fígado é um dos maiores órgãos localizado na cavidade abdominal do dourado. A coloração escura que apresenta pode variar em alguns indivíduos, sendo mais clara em animais visivelmente mais estressados.

De acordo com os dados obtidos para o dourado, as fêmeas apresentam quantidades decrescentes de lipídio hepático com o avanço do período de desova (Moreira, 1999). Microscopicamente, essa condição se reflete em esvaziamento crescente dos hepatócitos na fase de Repouso. Com o avanço da maturação, o citoplasma dos hepatócitos torna-se mais corado, refletindo diminuição do teor de lipídios em seu interior.

Nos machos ocorre o inverso, ou seja, aumento do lipídio hepático com a maturação (Moreira, 1999) e, microscopicamente, os animais em Repouso apresentam hepatócitos com citoplasma bem corado, que se torna vazio à medida que os animais amadurecem.

Como se sabe, nas técnicas histológicas usuais ocorre o emprego de álcool em várias diluições na fase de desidratação das peças e também do xilol (solvente orgânico) na fase de diafanização. Como os lipídios são compostos hidrofóbicos e altamente lipofílicos, quando o fígado é imerso no álcool e posteriormente no xilol, seu conteúdo lipídico é dissolvido, ficando o citoplasma com aspecto vazio, semelhante a um vacúolo. Assim, as células com pouca quantidade de lipídio apresentam-se coradas, e aquelas com maiores quantidades, vacuolizadas.

No dourado foi observada a presença de hepatopâncreas, ou seja, tecido pancreático invadindo o fígado. O tecido pancreático foi encontrado com maior frequência externamente ao fígado e raramente disposto internamente.

Hibiya (1982) discute a presença de tecido pancreático em algumas espécies de peixes de clima temperado, como *Sillago japonica*, *Chrysophrys major*, *Heliochoeres poecilopterus*, *Stephanolepis cirrhifer* e *Platycephalus indicus*. Nesses animais, o tecido pancreático invade o tecido hepático ao longo das ramificações da veia porta, como ocorre também em *Salminus maxillosus*.

O pâncreas é constituído por uma porção exócrina que secreta os sucos pancreáticos e uma porção endócrina, as ilhotas de Langerhans, que secretam hormônios, como insulina e glucagon. A porção endócrina apresenta coloração diferente: é mais clara e, em muitos peixes, as ilhotas de Langerhans aparecem isoladas da parte da porção exócrina, formando corpúsculos de Brockman (Hibiya, 1982). Na maioria dos dourados analisados, o pâncreas exócrino foi encontrado com frequência, enquanto o endócrino foi observado em uma pequena quantidade de animais.

Quanto às variações do tamanho do fígado com a fase de maturação dos animais, poucas variações foram observadas. O índice hepatossomático muitas vezes pode ser correlacionado aos lipídios do fígado dos peixes, existindo correlação dos valores de IHS com o teor de lipídio hepático (Ando et al., 1993).

Segundo Sayer et al. (1995), alterações nos valores de IHS podem estar associadas a possível utilização do fígado como órgão de reserva energética. Esses mesmos autores discutem, ainda, que elevações do IGS concomitantes às diminuições nos valores de IHS podem ser causadas por mobilização de proteínas e lipídios do fígado para o desenvolvimento gonadal.

Fêmeas do dourado mostram valores de IHS menores na fase de Maturação Inicial, exibindo sucessivos aumentos nas fases de Maturação Avançada e Madura. Machos apresentam a mesma tendência: queda na Maturação e elevação nos animais Maduros. No entanto, em ambos os sexos, nenhuma diferença foi estatisticamente diferente. Em *Parophrys vetulus* foi observado crescente aumento do IHS com o avanço da maturação, havendo queda após o período de desova (Johnson et al., 1991). Fêmeas de dourado nas fases de Repouso e Maturação Inicial apresentaram queda nos valores de IHS, acompanhada de diminuição dos níveis de lipídio hepático. Entretanto, na Maturação Avançada continua havendo aumento do IHS e queda nos níveis de lipídio hepático.

Como os dourados utilizados neste trabalho foram capturados em ambiente natural, onde os pesos dos animais variaram muito, pode-se sugerir que o aumento de IHS pode estar relacionado ao crescente aumento de peso das fêmeas nas fases de Maturação e não propriamente à mobilização de lipídio observada nos trabalhos anteriormente citados.

CONCLUSÕES

Conclui-se, a partir dos resultados obtidos, que histologicamente ocorrem alterações nos hepatócitos ao longo do ciclo reprodutivo. Fêmeas em Repouso e machos Maduros, por terem maiores quantidades de lipídio no fígado (Moreira,

1999), apresentam os hepatócitos com aspecto vacuolizado, pois grande parte de seu conteúdo certamente foi eliminado durante a metodologia utilizada na desidratação e coloração das preparações microscópicas. Ao contrário, machos em Repouso e fêmeas Maduras, por terem menores níveis de lipídio hepático (Moreira, 1999), apresentam os hepatócitos bem corados, indicando pouca alteração de conteúdo no processamento histológico.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e ao CEPTA/IBAMA pelo auxílio financeiro. Aos funcionários e pesquisadores do CEPTA/IBAMA pela colaboração na captura dos animais e no processamento das amostras.

REFERÊNCIAS

- ANDO, S.; MORI, Y.; NAKAMURA, K.; SUGAWARA, A. Characteristics of lipid accumulation types in five species of fish. *Nipp. Suis. Gak.*, v. 59, n. 9, p. 1559-1564, 1993.
- BAILEY, R.E. The effect of estradiol on serum calcium, phosphorus, and protein of goldfish. *J. Exp. Zool.*, v. 136, p. 455-469, 1957.
- BORGHETTI, J.R.; CANZI, C.; FERNANDEZ, D.R. A influência de diferentes níveis de proteína no crescimento do dourado (*Salminus maxillosus*). *Arq. Biol. Tecnol.*, v. 33, n. 3, p. 683-689, 1990a.
- BORGHETTI, J.R.; CANZI, C.; FERNANDEZ, D.R.; NOGUEIRA, S.V.G. Efeito da alimentação artificial com incorporação de andrógeno natural (testosterona) no desenvolvimento das larvas de *Salminus maxillosus*. *Arq. Biol. Tecnol.*, v. 33, n. 4, p. 939-948, 1990b.
- DABROWSKI, K.R. Seasonal changes in the chemical composition of fish body and nutritional value of the muscle of the pollan (*Coregonus pollan* Thompson) from the Lough Neagh, Northern Ireland. *Hydrobiologia*, v. 87, p. 121-141, 1982.
- DAWSON, A.S.; GRIMM, A.S. Quantitative seasonal changes in the protein, lipid and energy content of the carcass, ovaries and liver of adult female plaice, *Pleuronectes platessa* L. *J. Fish. Biol.*, v. 16, p. 493-504, 1980.
- HEATH, A.G. *Water pollution and fish physiology*. Boca Raton: CRC Press, 1995. 359 p.
- HIBIYA, T. *An atlas of fish histology: normal and pathological features*. Tokyo: Kodansha Ltd, 1982. 147 p.
- JOHNSON, L.L.; CASILLAS, E.; MYERS, M.S.; RHODES, L.D.; OLSON, O.P. Patterns of oocyte development and related changes in plasma 17- β estradiol, vitellogenin, and plasma chemistry in English sole *Parophrys vetulus* Girard. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, v. 152, p. 161-185, 1991.
- LIMA, R.L.V.A.; VAL-SELLA, M.V.; TORQUATO, V.C. Organização e desenvolvimento das gônadas do dourado (*Salminus maxillosus* Val.) durante o ciclo reprodutivo. *Bol. Fisiol. Anim.*, v. 10, p. 139-154, 1986.

LOVE, R.M. *The chemical biology of fishes*. London: Acad. Press., 1980. 943 p.

MEFFE, G.K.; SNELSON, F.F. Jr. Annual lipid cycle in eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae). *Copeia*, v. 1993, n. 3, p. 596-604, 1993.

MERAYO, C.R. Seasonal changes in the biochemical composition of the muscle and liver of bib (*Trisopterus luscus* L.) (Pisces, Gadidae) from the Cantabrian Sea (N Spain). *Sci. Mar.*, v. 60, n. 4, p. 489-495, 1996.

MORAIS-FILHO, M.B.; SCHUBART, O. *Contribuição ao estudo do dourado Salminus maxillosus Val. do Rio Mogi-Guaçu (Pisces, Characidae)*. São Paulo: Ministério da Agricultura, Divisão de Caça e Pesca, 1955. 131 p.

MOREIRA, R.G. *Esteróides gonadais, proteínas, lipídios plasmáticos e hepáticos em relação ao ciclo reprodutivo do dourado Salminus maxillosus (Valenciennes, 1840) (PISCES: CHARACIFORMES: CHARACIDAE) de ambiente natural*. São Paulo, 1999. 108 p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo.

SAYER, M.D.; GIBSON, R.N.; ATKINSON, R.J.A. Growth, diet and condition of goldsinny on the west coast of Scotland. *J. Fish Biol.*, v. 46, p. 317-340, 1995.

WIEGAND, M.D. Composition, accumulation and utilization of yolk lipid in teleost fish. *Rev. Fish Biol. and Fish.*, v. 6, p. 259-286, 1996.