

HERMAFRODITISMO E DESENVOLVIMENTO GONADAL DA DOBRADA, *Spicara melanurus*

Márcia Perazzo Valadares Costa*

*márcia.costa@indp.gov.cv

Instituto Nacional de Desenvolvimento das Pescas (INDP)

Departamento de Investigação Haliêutica e Aquacultura (DIHA), C.p 132, Mindelo S.Vicente, Cabo Verde

Introdução

Spicara é um género representado por peixes bento pelágicos pertencente a família centracanthidae, que contribui para a pescaria artesanal das Ilhas de Cabo Verde. Distribui-se desde Cabo Verde até Senegal (FAO, 1981). A captura desta espécie no Arquipélago de Cabo Verde ocorre principalmente na Ilha de Santiago, vindo seguido da Ilha de São Vicente.

Esta pescaria tem crescido nos últimos anos e tem assumido uma importância económica para este arquipélago. Sua captura tem crescido principalmente na Ilha de Santiago. Em 2000, a captura da dobrada ocupou o terceiro lugar do total das capturas pesqueiras de Cabo Verde, perdendo apenas para albacora (*Thunnus albacares*) e para a cavala preta (*Decapterus macarellus*). Em 2003 liderou o total das capturas artesanais com 44%, seguido pelo chicharro (*Selar crumenophthalmus*) e depois pela cavala preta (INDP, 2003). Do total dos pequenos pelágicos assumiu 21% das capturas e 10% do total das capturas pesqueiras de Cabo Verde (INDP, 2003).

Uma vez que a espécie tem importância económica e que a pressão da pesca tem crescido sobre a mesma, é necessário protegê-la e para tal o conhecimento da sua biologia, da dinâmica de sua população e do seu potencial de pesca é

fundamental. Sabe-se que espécies do mesmo género da dobrada como *Spicara smaris* e *Spicara maema* têm mortalidade natural alta, ISMEN (1995) e DULCIC *et al*, (2000), respectivamente. Esta característica populacional é um indicador da vulnerabilidade desta população para uma pesca intensiva e com o crescimento acelerado da captura da dobrada nos últimos anos, a necessidade de se estudar a mesma tornou-se premente, tanto biologicamente como a nível populacional, uma vez que estas capturas influenciam na abundância numérica ou biomassa da população.

As abundâncias das populações das espécies nos sistemas aquáticos naturais são reguladas principalmente pelos eventos biológicos: recrutamento e reprodução. A reprodução é o processo biológico que perpetua a espécie e que dar continuidade às gerações seguintes. É através da mesma que se pode prever o tamanho de uma população, contabilizando-se é claro, a mortalidade natural e por pesca. O conhecimento deste processo promove ao gestor das pescas uma ferramenta chave para a protecção de uma população.

Entretanto, a reprodução dos peixes é complexa e os mesmos apresentam diferentes tipos de diferenciação sexual, apresentando espécies gonocóricas e hermafroditas e diferentes padrões de ciclo de vida (KRUG, 1998). O processo de diferenciação sexual em peixes é muito flexível no que diz respeito aos modelos

evolucionários observados entre géneros e famílias, e dentro de indivíduos, estando sujeitos a modificação de factores externos. Estes factores podem influenciar células germinativas e somáticas, dentro da gónada jovem e inclui a acção genética, do meio ambiente (ex: temperatura) (KRUG, 1998; DEVLIN & NAGAHAMA, 2002), do comportamento e dos factores fisiológicos (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002).

Constatou-se entretanto que, a dobrada *Spicara melanurus* é hermafrodita (COSTA, 2005), assim como muitas outras espécies de peixes. As espécies de peixes hermafroditas podem assumir primeiro o sexo masculino sendo assim chamado hermafrodita protandrico ou ser primeiro fêmeas, sendo chamada hermafrodita protoginos. Entretanto, DEVLIN & NAGAHAMA (2002) indica a existência de peixes hermafroditas que podem produzir gâmetas maduros, masculinos e femininos ao mesmo tempo.

Quando uma espécie de peixe é hermafrodita, a mesma apresenta características reprodutivas diferentes daquelas que são gonocorísticas ou seja que apresenta um único sexo. Portanto, para se recomendar medidas fiáveis de gestão dos recursos é necessário conhecer o modelo sexual das espécies, suas características sexuais como época da primeira maturação sexual, modelo de desenvolvimento gonadal, tipo de hermafroditismo e o tamanho da inversão sexual.

Assim, o presente trabalho teve como objectivo descrever o desenvolvimento gonadal, o tipo de hermafroditismo, determinar o tamanho da primeira maturação sexual e determinar a época reprodutiva. Os métodos utilizados neste trabalho foram a determinação dos

estágios gonadais através da escala macroscópica e microscópica (histológico), a análise da variação dos índices gonodossomaticos e a medição do diâmetro dos ovócitos.

A dobrada é um pequeno pelágico costeiro, que vive próximo às rochas. O tamanho máximo encontrado nestas amostragens, foi de 284 mm de comprimento furcal e peso de 406 g. O pico de desova ocorre em Julho e Abril. É pescada essencialmente com a rede de emalhar, cujo tamanho da malha é de 4 cm. Com este engenho de pesca, a captura incide sobre animais adultos.

Material e Métodos

Trabalho de campo

Os dados de temperatura foram coletados a partir de CTD, durante os 12 meses da amostragem biológica.

Amostragem biológica

Os espécimes foram comprados do produto da pesca comercial. As mesmas eram pescadas com rede de emalhar com malha de 4 cm. As amostragens foram feitas em um período de 12 meses (Setembro 2002 até Setembro de 2003). Conseguiu-se um total de 1975 peixes. De cada indivíduo foram registados os comprimentos furcal (CF) e padrão (CP) em milímetros, os pesos total (PT) e das gônadas (PG) em gramas; o sexo e o estágio de maturidade (escala proposta por Kesteven, 1960). Foram congeladas 3 gônadas de cada estágio macroscópico, para estudos histológicos. Posteriormente, as gônadas foram fixadas em líquido de Bouin, durante 24 horas, e decorrido este tempo transferidas para álcool 70 %.

Histologia

Para verificar se os ovários tiveram um desenvolvimento ovocitário sincrônico ou assincrônico, foram retiradas porções da parte anterior, média e posterior de 6 ovários. Mediu-se 151 ovócitos de cada gônada. A medição foi feita de forma aleatória, seguindo uma direção, de forma a não se fazer medidas repetitivas. Baseados nesta primeira análise, verificou-se que bastava retirar uma porção de cada gônada para identificar microscopicamente os estágios de maturação gonadal, já que observou-se que os ovários apresentam um desenvolvimento sincrônico. Para a análise microscópica, foram retiradas porções de 1 cm³, aproximadamente, de 161 ovários. As amostragens ocorreram durante 1 ano e procurou-se representar todos os estágios macroscópicos que ocorreram em cada mês.

Utilizou-se um protocolo de processamento, com desidratação em álcool etílico, em diferentes gradientes de concentração, diafanização com xilol, impregnação e inclusão em parafina (**Tabela 1**).

Tabela 1- Protocolo de preparação das lâminas histológicas.

Desidratação (álcool etílico)	Diafanização (xilol)	Impregnação
80 ^o -20 min	10 min	1h e 30 min
90 ^o - 20 min	10 min	
96 ^o I - 20 min		
96 ^o II - 20 min		
100 ^o I - 20 min		
100 ^o II - 20 min		

Foram feitos cortes de 7 µm de espessura com um micrótomo manual e imediata colagem (disposição) dos mesmos sobre as lâminas histológicas. As lâminas foram coradas pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE). A montagem das lâminas foi

feita colocando bálsamo do Canadá sobre os cortes para colar as lamínulas e, posteriormente, havendo secagem em estufa (20°C) ou temperatura ambiente. A observação, a análise das lâminas e a realização de fotomicrografias foram efectuadas com microscópio óptico binocular, NIKON, com aumento de 40 a 1000 vezes.

Análise dos dados

A proporção sexual foi estimada por mês e por classe de comprimento. Neste último caso os indivíduos foram agrupados em classes de 10 mm, de 130 à 289 mm. Para isto foi calculada a frequência percentual e aplicado o teste de X² para identificar possíveis diferenças significativas nas proporções.

Para determinar a relação comprimento furcal X peso total de fêmeas e machos, os dados foram introduzidos na folha de cálculo EXCEL, plotados em gráfico de dispersão e por fim feito a regressão linear onde a e b são estimativas dos parâmetros de crescimento.

A partir do peso total (PT) e do peso da gônada (PG), foi calculado, para cada indivíduo, o índice gonadosomático (IGS) definido como:

$$\text{IGS} = (\text{PG}/\text{PT}) \times 100$$

O fator de condição (K) foi calculado, para cada indivíduo, a partir do peso total (PT) e comprimento furcal (CF), definido como:

$$\text{K} = \text{PT}/\text{CF}^b$$

onde: b= coeficiente da regressão entre CF X PT

Cada índice (IGS e K) foi agrupado por mês. As variações temporais de cada índice foram analisadas e comparadas ao longo do período amostrado.

O comprimento médio de primeira maturação gonadal ($L_{50\%}$) foi obtido a partir da frequência numérica de indivíduos adultos com estágios macroscópicos de maturidade (escala proposta Kesteven, 1960), e da análise microscópica das gónadas.

As identificações macroscópicas e microscópicas dos estágios gonadais foram confrontada, e a coincidência das duas classificações (macroscópicos e microscópicos) representam as gónadas que foram identificadas corretamente pelos dois métodos.

As distribuições de frequência dos estágios de maturidade gonadal microscópicos dos ovários por mês, ao longo de um ano, foram comparadas e analisadas.

Comparou-se o IGS com a variação do factor de condição (K) e a escala microscópica de classificação gonadal.

Resultados

Tamanho da primeira maturação sexual

Os nossos resultados, através da ogiva de maturação (**Figura 1**), nos dar um tamanho da primeira maturação para fêmea de 175 mm e para macho de 155 mm, baseando-se na escala macroscópica. Entretanto, através das análises microscópicas, o tamanho da primeira maturação sexual para fêmeas é de 183 mm. O tamanho da primeira maturação sexual na escala microscópica é superior àquele indicado pela ogiva de maturação, 175 mm para fêmeas (escala macroscópica).

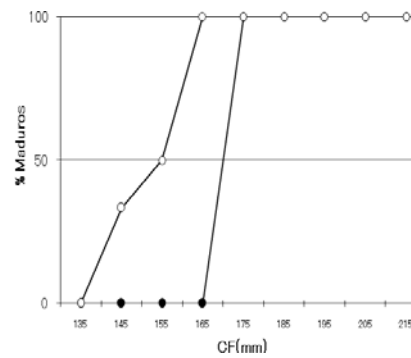


Figura 1– Ogiva de maturação da dobrada, baseada na escala macroscópica. A primeira curva indica a maturação dos machos, enquanto a segunda curva indica a maturação das fêmeas. Notar que o tamanho, em que 50 % dos machos estão maduro, é de 155 mm e das fêmeas é de 175 mm.

Proporção Sexual

A proporção de machos e fêmeas de dobrada, tem mostrado uma média muito próxima de 50 % na maioria dos meses amostrados, sendo no entanto a proporção maior para fêmeas. Mas, estas proporções têm variações bruscas em Setembro de 2002 e Maio de 2003 (**Figura 2**). Nestes meses os machos apresentam maiores tamanhos que as fêmeas, e as proporções masculinas e femininas apresentam diferença significativa, quando submetidas ao teste X^2 , favorecendo os machos. Entretanto, nos meses que as fêmeas dominaram, não se verificou diferença significativa entre as duas proporções, masculina e feminina.

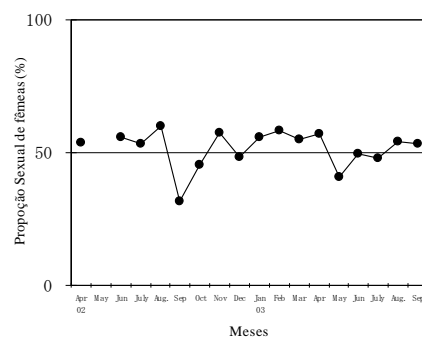


Figura 2– Proporção sexual de fêmeas nos diferentes meses amostrados.

Na composição de comprimentos, os indivíduos de menores e maiores tamanhos, na sua maioria são machos, entretanto, nos comprimentos intermédios as fêmeas lideram em quantidade. Através do teste X^2 , detectou-se diferença significativa entre as proporções sexuais, nas seguintes classes de comprimento: 140 a 169 mm, 270 a 289 mm; as maiores percentagens são para machos. Nas classes de comprimentos intermediárias, 180 a 189 mm; 200 a 209 mm, a maior percentagem é para as fêmeas, ocorrendo diferença significativa através do teste de X^2 .

Histologia

Estrutura Histológica do Ovário

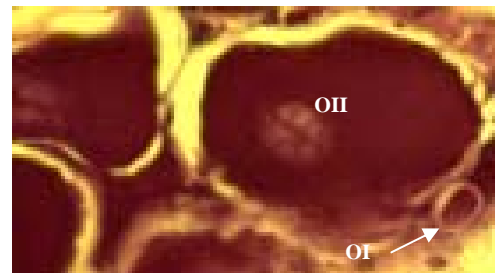
Os ovários são órgãos pares, revestidas externamente, por uma cápsula externa (cápsula ovárica) de tecido conjuntivo fibroso, associadas as camadas de células musculares lisas em disposição longitudinal e transversal. Desta cápsula se ramificam septos radiais mais delgados, de um tecido conjuntivo fibroso, que formam as lamelas ovígenas; estas por sua vez são preenchidas por tecido conjuntivo frouxo que encerra em seu interior grande quantidade de células germinativas (**Figura 3 B**).

Desenvolvimento Ovocitário

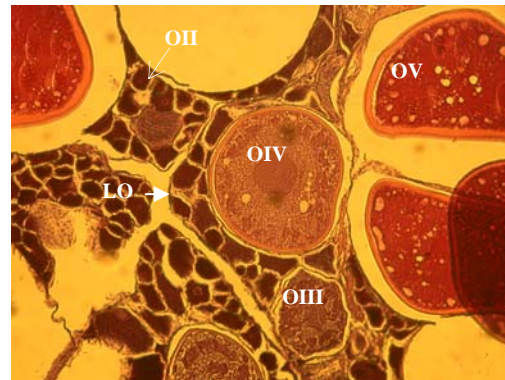
As células germinativas femininas, ovogonias, passam por grandes modificações durante seu desenvolvimento, distinguindo-se várias fases de desenvolvimento celular durante o amadurecimento destas células.

A oogônia (Cromatina-nuclear), que é a célula germinativa feminina jovem (OI), caracteriza-se por apresentar uma relação

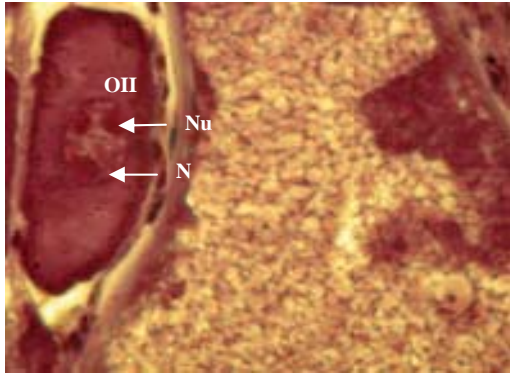
“volume do núcleo/ volume do citoplasma” alta, e um núcleo arredondado e intensamente basófilo (**Figura 3A**). A mesma aumenta de volume devido ao aumento do volume do citoplasma, conseqüentemente a relação “volume do núcleo/ volume do citoplasma”, se altera. O citoplasma passa a apresentar-se intensamente basofílico, e os ovócitos, nesta fase passam a serem denominados de ovócito de estoque de reserva ou ovócitos perinuclear (**Figuras 3A e 3C**). O núcleo apresenta mais de um nucleolo (**Figura 3C**), que vão tornando-se numerosos e volumosos



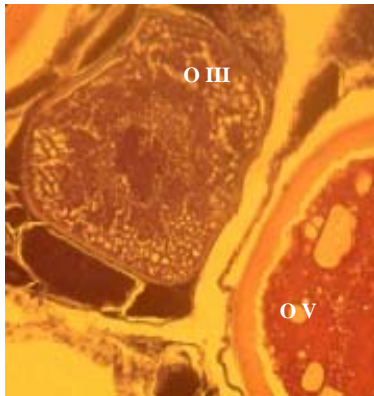
A- Micrografia de um ovário de uma fêmea de dobrada OI- Ovogônia; OII- Ovócito Perinuclear. 1000x.



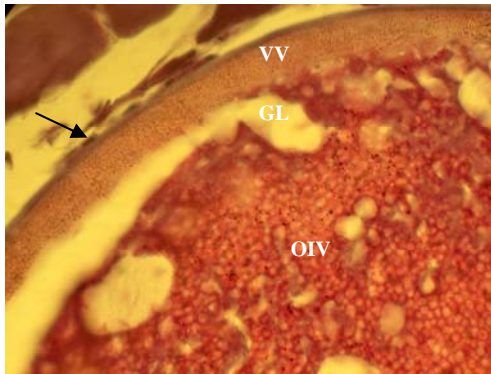
B-Micrografia do ovário de dobrada. Notar as Lamelas ovígenas (LO), Ovócitos peri-nucleares (OII), Ovócitos com vitelogenese lipídica (OIII), Ovócitos com vitelogenese lipídica e protéica (OIV) e Ovócitos com vitelogenese completa (OV). 100x.



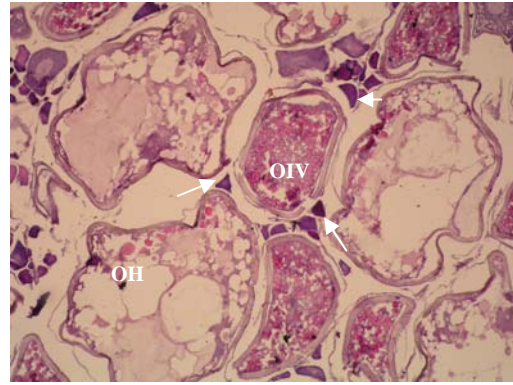
C- Micrografia de um ovário de uma dobrada fêmea. Observar ovócito Perinucleolar (OII); Núcleo (N); Nucleolo (Nu). 1000x.



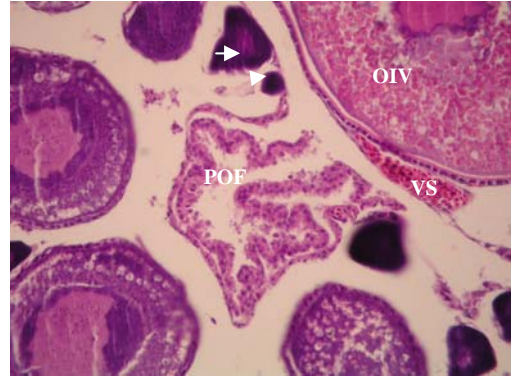
D- Micrografia de um ovário de uma dobrada . Observar os ovócitos com vitelogênese lipídica (O III). Notar a formação da vesícula vitelínica. e Ovócitos com vitelogênese completa (OV). 400 x



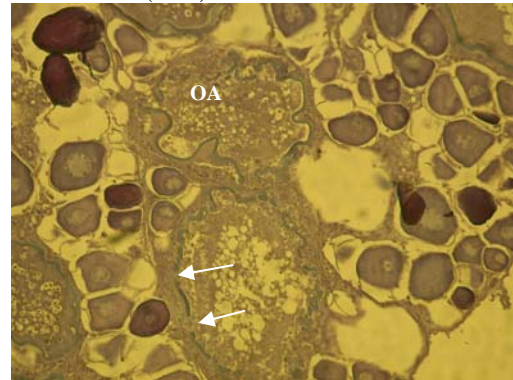
E- Micrografia de um ovário de uma dobrada. Observar o ovócito com vitelogênese lipídica e proteica (OIV). Notar a vesícula vitelínica (VV), as células foliculares (CF) e gotículas lipídicas (GL). 1000 x.



F- Micrografia de um ovário de uma dobrada. Observar os ovócitos hidratados (OH). Ovócitos com vitelogênese lipídica e protéica (OIV); Ovócito Perinucleolar (setas).100x.



G- Micrografia de um ovário desovado de uma dobrada. Observar os folículos pós-ovulatórios (POF) e o vaso sanguíneo (VS); Ovócitos com vitelogênese lipídica e protéica (OIV); Ovócito Perinucleolar (setas).200x.



H - Corte de uma gonada hermafrodita incidindo sobre a parte ovárica. Observar os ovócitos artrésicos (OA) com a membrana vitelínica rompida (setas). 100

Figura 3 (A; B; C; D; E; F; G; H)- Corte do ovário de dobrada *Spicara melanurus*. Com células

migrando para a periferia nuclear, o que justifica o nome de ovócito perinuclear (OII).

Com o desenvolvimento, o ovócito perinucleolar começa a armazenar substância de reserva no citoplasma, especificamente lipídios (OIII). Nesta fase já se observa a vesícula vitelínica (**Figura 3D**). Depois da vitelogenese lipídica inicia-se a proteica, ficando depositado nos ovócitos tantas partículas lipídicas como proteicas (OIV) (**Figura 3B**). A membrana vitelínica apresenta estrias que são canalículos que fazem a ligação entre o citoplasma do oócito e as células foliculares (**Figura 3E**). Seguidamente o ovócito aumenta de volume completando-se a vitelogenese. O mesmo toma um aspecto homogêneo e está maduro (OV) (**Figura 3B**). Nesta fase observa-se a desintegração da membrana nuclear. Seguido a esta fase, ocorre uma última etapa do processo de desenvolvimento, que é a hidratação do ovócito, horas antes da desova (**Figura 3F**).

Nos ovários desta espécie também foram observadas estruturas derivadas como:

- **Corpos foliculares ou folículos pós-ovulatórios (POF)**

São estruturas que se originam das células foliculares, a partir dos folículos vazios (pós-desova). As células foliculares, nesta fase, se organizam em um corpo semelhante a um cordão contínuo de células (**Figura 3G**), que se apresenta dobrado.

- **Ovócitos atrésicos**

São caracterizados pela fragmentação da zona radiata e dissolução do conteúdo citoplasmático. Portanto, a membrana

vitelínica se rompe e ocorre a perda da individualidade dos grânulos de vitelos e estes vão se apresentar como uma massa amorfa (**Figura 3H**). Este tipo de artresia foi observado nos ovários imaturos e em descanso.

Estádios de desenvolvimento dos ovários

As análises microscópicas mostram que esta espécie tem desovas múltiplas, uma vez que todos meses se encontram espécimes com diferentes estádios reprodutivos, e que em uma mesma gônada pode-se ver células em vários estágios de desenvolvimento, como gônadas com células em 4 estágio de desenvolvimento: ovócitos perinuclear (OII), ovócitos de vitelogenese lipídica (OIII), ovócitos de vitelogenese lipídica e proteica (OIV), ovócito de vitelogenese proteica (OV) (**Figura 3B**). Poderíamos estar pensando que estas células que estão mais desenvolvidas iriam esperar que as menos desenvolvidas se desenvolvessem ou seja, acumulasse todo vitelo necessário em seu citoplasma para então serem liberados. Mas, quando observamos cortes de ovários em reprodução, com ovócitos hidratados e cortes de ovários desovado com folículos pós-ovulatórios (POF), observamos que estes ovários apresentam ovócitos em vários outros estágios de desenvolvimento celular (**Figura 3F e 3G**), o que significa dizer que, os ovócitos hidratados vão ser liberados de imediato, e quando as outras células amadurecerem serão liberados em uma outra desova, o que caracteriza uma desova parcelada. Portanto existem várias épocas de desova.

Através da comparação dos resultados das análises histológicas e das análises macroscópicas, observou-se que os estádios de desenvolvimento das gônadas apresentam-se muito diferentes, com um resultado de coincidência entre as duas

escalas de apenas 44 %. Através da análise histológica foram encontradas gónadas nos seguintes estágios de maturação:

Imaturo

Foram analisadas algumas gónadas imaturas em que foi identificado células em divisão evidenciadas pelas figuras mitóticas presentes, constatando-se o desenvolvimento gonadal. Em outras gónadas imaturas constatou-se a presença do hermafroditismo que pôde-se distinguir através da observação de lóbulos gaméticos contendo no seu interior estruturas de linhagem reprodutiva masculina (túbulos seminíferos) e células de linhagem reprodutiva feminina (**Figura 4B**). Os túbulos seminíferos são circulares delimitados pela invaginação da túnica albuginea dos testículos, que subdivide a massa testicular em lóbulos internos e possuem uma luz ampla (**Figura 4 B**). A sua periferia tem a constituição da túnica albuginea, que é formada por tecido conjuntivo colagenoso. O tecido colagenoso permite que os túbulos seminíferos se contraíam para expulsão gamética. O seu interior estar preenchido por células de tamanho pequeno, identificadas pela presença dos núcleos (**Figura 4C**).

Em algumas gónadas foi possível distinguir a presença de espermatogónias caracterizada tanto pelo núcleo de forma oval, como pelos granulos de heterocromatina (**Figura 4C**). As estruturas gaméticas femininas são células reprodutivas femininas na fase de ovócitos perinucleares, fortemente basofílicas. Este estágio celular da célula também é visto em gónadas em estágios de desenvolvimento mais avançado (**Figura 3 A**).

Os indivíduos que apresentam ovários imaturos, têm comprimento médio de 123mm (78 mm no mínimo e 156 mm no máximo).

Em maturação

Histologicamente, nesta fase de desenvolvimento gonadal observou-se simultaneamente a ocorrência de ovócitos perinucleolar, com vitelogenese lipídica, com vitelogenese lipídica e proteica e alguns com vitelogenese completa (maduro). Os vasos sanguíneos são visíveis (**Figura 3 B**).

Maduro

Histologicamente a característica fundamental deste estágio é a frequência de ovócitos na fase V (**Figura 4D**), que já ocorriam em baixa frequência no estágio anterior, mas agora são mais abundantes. Os ovócitos do estoque de reserva (II) continuam presentes, coladas as lamelas, mas estão bem separados entre si, em função da distensão destas. Os ovócitos nas fases III e IV continuam presentes. Grandes vasos sanguíneos podem serem vistos.

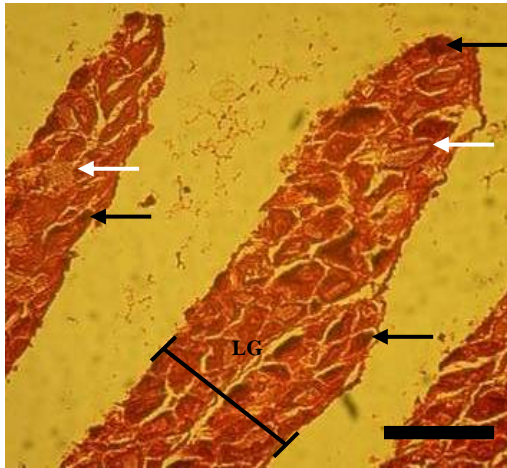
Desova Eminente

Foram classificados ovários em desova eminente, aqueles que apresentavam ovócitos hidratados (**Figura 3F**).

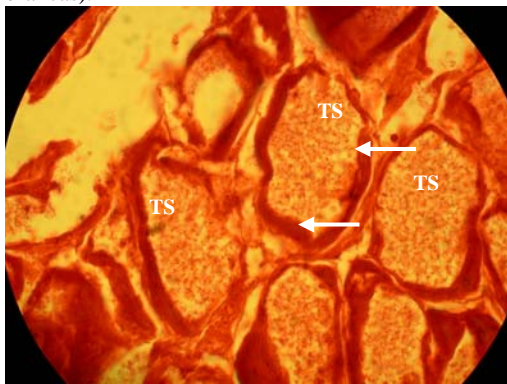
Esvaziado ou em recuperação

Histologicamente apresentam aspecto desordenado e de esvaziamento; as lamelas ovígenas, distendidas no estágio anterior pelos ovócitos maduros, deixam agora enormes espaços vazios entre si. Ocorrem restos foliculares (POF) (**Figura 3G**) em grande quantidade e, em alguns casos, folículos artrésicos (**Figura 3H**), em absorção, próximos a inserção dos

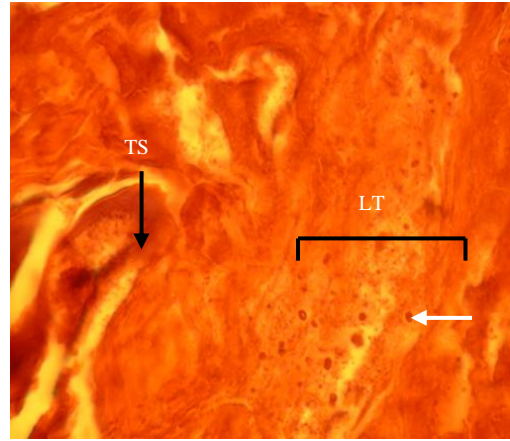
vasos sanguíneos. Aparecem vasos sanguíneos dilatados, sendo comuns derrames de sangue, que dão o aspecto hemorrágicos a estes ovários. Pode-se observar ainda ovócitos maduros, ovócitos peri-nucleolares, alguns ovócitos com inclusão lipídica e mais escassamente com inclusões lipídicas e proteicas. Isto indica a ocorrência de processos que levarão a uma reorganização dos ovários.



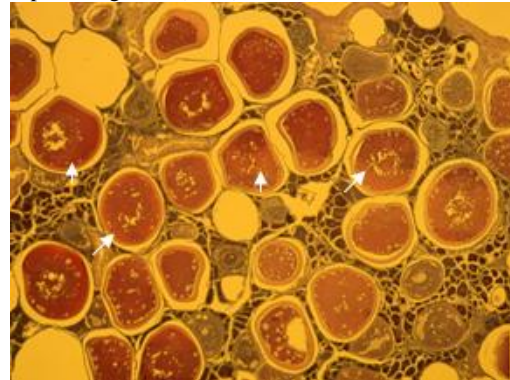
A- Corte de uma gonada imatura de dobrada *Spicara melanurus*, constituida por lóbulos gaméticos (LG). Notar os ovócitos perinucleares (setas pretas) e os tubulos seminíferos (Setas brancas).



B- Corte de uma gónada imatura dobrada em diferenciação para testículos. Notar as estruturas arredondadas (TS), circundadas por uma membrana de tecido conjuntivo colágeno (setas). 1000x.



C-Corte de uma gónada imatura. Notar os túbulos seminíferos (TS) , lóbulo testicular (LT) e as espermatogonias (setas).



D- Micrografia de um ovário maduro de dobrada. Notar a alta incidência de ovócitos no estágio V (setas). Aumento 40 X.

Figura 4(A; B; C; D)- Corte do ovário de dobrada mostrando os diferentes estágios de desenvolvimento do mesmo.

Determinação do sexo e hermafroditismo

Durante as amostragens de 1975 indivíduos de dobrada, *Spicara melanurus*, encontrou-se indivíduos machos e indivíduos fêmeas (**Figura 5 A**). Após o período de amostragem deste trabalho, encontrou-se indivíduos hermafroditas em outras amostragens da mesma espécie, realizada mensalmente pelo INDP (Instituto Nacional do Desenvolvimento das Pescas - República de Cabo Verde). Estes indivíduos

apresentaram comprimento médio de 250 mm e foi possível constatar a diferença tanto macroscopicamente (**Figura 5 B**) como microscopicamente.

Segundo os nossos dados e análises, estas gónadas primeiro passam por uma fase indiferenciada apresentando células germinativas masculinas e femininas (**Figura 4 A**). No avançar do desenvolvimento as gónadas se diferenciam em indivíduos machos ou indivíduos fêmeas. Em algumas das gónadas que inicia sua diferenciação se verifica tanto células femininas reprodutivas, mas também estruturas reprodutivas masculinas. Para que uma gónada se diferencie em feminina ou masculina, uma das estruturas irá regredir ou paralisar seu desenvolvimento, provavelmente as células reprodutivas femininas entrarão em artresia, uma vez que os túbulos seminíferos já se encontram em uma fase de diferenciação mais avançada.

Ao analisar-se as lâminas microscópicas das gónadas hermafroditas de animais com tamanho médio de 250 mm, que apresentaram ovotestículos (**Figura 5 B**), na parte ovárica observou-se muitos ovócitos em artresia (**Figura 3 H**), o que pode ser um indicador de regressão. Isto provavelmente indica que os ovários estão em regressão e os testículos estão em desenvolvimento. Desta forma caracteriza-se assim um tipo de hermafroditismo, em que a espécie é primeiro fêmea e depois macho, o hermafroditismo protogínico. Tal facto pode ser ressaltado pela análise da composição de comprimento, dos indivíduos amostrados neste estudo, que mostram que a partir de 274 mm ocorre ausência de fêmeas.



A – Gónadas da dobrada: O-Ovário, T-Testículo.



B – Vista macroscópica de uma gónada hermafrodita da dobrada *Spicara melanurus*. O-Ovário (O), testículo (T).

Figura 5 (A; B) – Fotografia das gónadas da dobrada (*Spicara melanurus*): masculina, feminina e hermafrodita, respectivamente.

Épocas Reprodutivas

Esta é uma espécie que tem desova múltipla durante o ano. Tal facto se constata pelo ovário da mesma apresentar sempre, células em várias fases de desenvolvimento. Os ovários apresentam em simultaneamente ovócitos perinuclear, ovócitos de vitelogenese lipídica, ovócitos de vitelogenese proteica e ovócitos de vitelogenese proteica (**Figura 3B**). Poderíamos estar a pensar que estas células

que estão mais desenvolvidas iriam esperar que as menos desenvolvidas se desenvolvessem ou seja, acumulasse todo vitelo necessário em seu citoplasma para então serem liberados. Mas, quando observamos cortes de ovários em reprodução, com ovócitos hidratados e cortes de ovários desovado com folículos pós-ovulatórios(POF), observamos que estes ovários apresentam ovócitos em vários outros estágios de desenvolvimento celular (**Figura 3 F e G**), o que significa dizer que, os ovócitos hidratados vão ser liberados de imediato, e quando as outras células amadurecerem serão liberados em uma outra desova, o que caracteriza uma desova parcelada. Portanto existem várias épocas de desova.

Através da Figura 6, observou-se que as análises microscópicas apontam para espécies em desova nos meses de Julho e Novembro de 2002; Janeiro, Fevereiro, Abril e Julho de 2003. Entretanto, o mês que encontrou-se maior quantidade de fêmeas em desova foi em Abril/03, seguido dos meses de Janeiro e Fevereiro/03, Julho de 02 e 03, e Novembro/02.

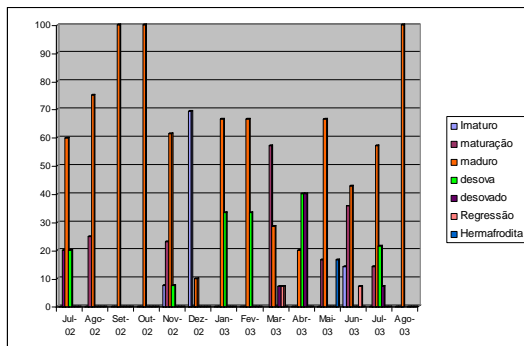


Figura 6- Estádios de maturação histológicos, nos diferentes meses de amostragem.

Estas evidências microscópicas são confirmadas por índices gonodossomáticos altos nestes meses, e

com os índices do factor de condição em decréscimos nos meses referidos como meses de desova (**Figura 7**).

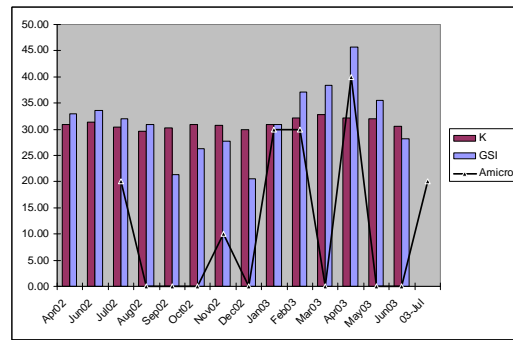


Figura 7- Dados dos índice gonodossomático médio (IGS médio), factor de condição médio (K) e da análise microscópica (Amicro), realizado desde Abril de 2002 até Julho de 2003, da dobrada *Spicara melanurus*

Assim pode-se identificar 4 épocas de desova para esta espécie durante o ano: Janeiro e Fevereiro, Abril, Julho e Novembro. Mas a maior incidência de fêmeas em desova ocorre no mês de Abril seguido dos meses de Janeiro e Fevereiro, época em que a temperatura variou de 20 a 23,3 ° C (Figura 8). A época de maior intervalo entre uma desova e outra é em Agosto, Setembro e Outubro, coincidindo com temperaturas que variaram na faixa de 24,1 a 27,9 ° C (Figura 8).

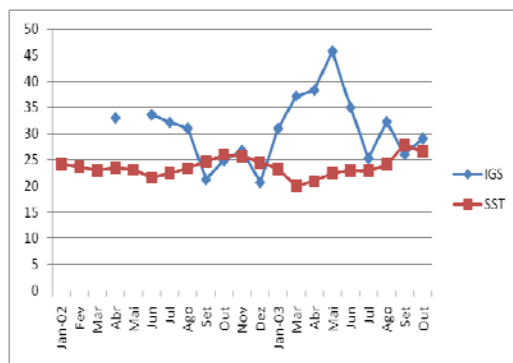


Figura 8- Correlação entre as curvas de variação do índice gonodossomático (IGS) e da temperatura superficial da água (SST), da dobrada *Spicara melanurus*.

Discussão

A *Spicara melanuurus* presente em Cabo Verde é descrita como pequeno pelágico, entretanto sua característica reprodutiva, hermafroditismo, é típico de espécies que apresentam uma relação mais estreita com o fundo. Portanto, a descrição como pequeno pelágico é duvidosa e esta espécie provavelmente é um bentopelágico, descrição esta que estaria mais próximo da espécie do mesmo género, *Spicara flexuosa* que é descrita como demersal (VIDALIS & TSIMENIDIS, 1999; MYTILINEOU & PAPACONSTANTINUO, 1991).

É uma espécie hermafrodita que possui ambos gâmetas imaturos, femininos e masculinos, em uma simples gónada imatura, que se diferencia em adulto como macho ou fêmea. Este tipo de desenvolvimento gonadal, em que ambos sexos ocorrem em gónadas imaturas, e que no decorrer do desenvolvimento, a gónada se diferencia dentro de um simples sexo, ocorre com dobrada e é descrito por muitos outros trabalho de investigação com peixes (DELVIN & NAGAHAMA (2002); LOWARTZ & BEAMISH (2000); RUTAISIRE & BOOTH (2005)). Na gónada imatura da dobrada, as células germinativas femininas foram classificadas como ovócitos perinucleares, pelo seu citoplasma altamente basofílico (GURAYA (1986), RUTAISIRE & BOOTH (2005)). As células germinativas femininas da dobrada se desenvolvem dentro do tecido gonadal, no qual a cavidade ovariana ainda não se formou. Tal facto estar de acordo com DELVIN & NAGAHAMA (2002), que indica que em muitas espécies de peixes o desenvolvimento ovariano em fêmeas é primeiro detectado com a proliferação de células somáticas e oogonias que diferenciam-se em jovens ovócitos, para

então ocorrer a formação da cavidade ovariana. Segundo os autores anteriores, o desenvolvimento testicular usualmente ocorre mais tarde que a diferenciação ovariana. Portanto, a presença dos túbulos seminíferos é um indicador que o desenvolvimento testicular está em processo. Se a gónada imatura da dobrada apresenta os dois tipos de células sexuais, e se nas classe de comprimentos superiores, até 230 mm, estas espécies ou são machos ou são fêmeas, um dos sexo regredem. Artresia de ovócitos perinucleares é descrita por RUTAISIRE & BOOTH (2005), que cita a presença de ovócitos perinucleares em gónadas que mais tarde se desenvolverá em testículos. Estas células sofrerão um ataque de artresia, e a gónada desenvolverá em testículo. Tal processo poderá ocorrer na dobrada, pois as gónadas que apresentam os componentes masculinos (túbulos seminíferos) e femininos (ovócitos perinucleares) apresentam também, uma invasão de tecido conjuntivo rico em fibras, que provavelmente são fibras colágenas, típica da túnica albugínea dos testículos, que invadiram a gónada imatura e subdividiram a massa testicular em lóbulos internos (túbulo seminíferos). O tecido colagenoso permite que os túbulos seminíferos se contraíam para expulsão gamética. Tal processo fisiológico é citado por RUTAISIRE & BOOTH (2005), que indica que as gónadas imaturas destinadas ao desenvolvimento de testículos sofre artresia asincronica nos oócitos perinucleares, divisão activa de gonocitos com o aparecimento de ninhos de espermatogónias e a cobertura da gónada por tecido conjuntivo. Este tecido conjuntivo é rico em fibras colágenas, fibroblastos e músculo liso e demarcam lóbulos pela sua invaginação no interior da gónada.

As gónadas imaturas da dobrada, que se desenvolvem em fêmeas, provavelmente permanecem com células germinativas masculinas, pois a partir do comprimento furcal de 230 mm, ocorrem indivíduos com ovotestículos, indicando a condição de hermafroditismo. Segundo DEVLIN & YASHITAKA (2002), as espécies hermafroditas são diferenciadas a partir de espécies gonocorísticas que possuem ambos gâmetas imaturos no mesmo ponto de desenvolvimento em uma simples gónada, mas que depois assume um sexo. Segundo YAMAMOTO (1969), no modelo sexual gonocorístico indiferenciado da classe Pisces, as larvas possuem ambos as células germinativas masculinas e femininas, que depois se diferenciam em machos ou fêmeas. No ovotestículo da dobrada adulta, na parte ovariana, ocorre alta incidência de artresia em ovócitos vitelogenicos e na parte testicular as células masculinas apresentam-se em várias fases de desenvolvimento. Tais factos sugerem que a parte feminina é invadida pelo desenvolvimento do testículo, o que caracteriza hermafroditismo. A artresia é um fenómeno fisiológico indicador de regressão gonadal RUTAISSIRE & BOOTH (2005). Provavelmente os ovários estão em regressão e os testículos estão em desenvolvimento, caracterizando hermafroditismo protoginus, em que a espécie é primeiro fêmea e depois macho. Tal comportamento fisiológico é descrito para *Labeo victorianus*, que é um hermafrodita protoginus (RUTAISSIRE & BOOTH (2005) para *Epinephelus* e seus aliados (YAMAMOTO, 1969) e para outras espécies do género *Spicara* como para *S. smarís* (VIDALIS & TSIMANNIDIS, 1996; SALEKHOVA, 1979; FISCHER *et al.*, 1987), *S. flexuosa* (MYTILINEOU & PAPACONSTANTINO, 1991) e *S.*

maena (LEPORI, 1960; REINBOTH, 1962).

Segundo ZEI (1951), DULCIC *et al.*, (2000), VIDALIS & TSIMANNIDIS (1996), SALEKHOVA (1979), MYTILINEOU & PAPACONSTANTINO (1991), hermafroditismo protoginus é comum dentro a família Centracanthidae e CABO (1951, 1953) confirmou este modelo sexual para *Spicara smalis* e encontrou os dois sexos em *S. smalis* e *S. alcedo*. Assim, nos nossos resultados, alguns indivíduos de dobrada assumem primeiro o sexo feminino, sofre inversão sexual e passam a serem indivíduos machos. Este processo é evidenciado na distribuição do sexo por classes de comprimento, e ao analisamos as classes de comprimento acima de 255 mm, observamos uma maior quantidade de indivíduos machos em relação as fêmeas, mas também ocorre machos nas classes de comprimentos inferiores amostradas como 140 mm.

LIU & SADOVY (2004) cita dois tipos de hermafroditismo protoginus: monandrico e diandrico. Monandrico são aqueles peixes em que só desenvolve o sexo masculino depois de passar pelo sexo feminino funcional. Assim, nesta população os machos são sempre os maiores indivíduos, ou seja, não ocorre indivíduos de sexo masculino com tamanho inferiores aos das fêmeas. No modelo diandrico, a diferenciação masculina ocorre tanto a partir de indivíduos indiferenciados como a partir de fêmeas funcionais. Portanto, esta população apresenta machos com tamanhos inferiores (machos primários) ao das fêmeas como macho com tamanhos superiores as fêmeas (machos secundários), que se diferenciam a partir de uma fêmea funcional. Assim, concluímos que a dobrada é um

peixe hermafrodita protoginus diandrico uma vez que o sexo masculino ocorre nas menores e maiores classes de comprimento amostradas.

Segundo WEEKS *et al.* (2005), a mudança de comportamento sexual de dióico para hermafrodita ou vice-versa, é causada por mudanças nas condições ambientais ou ao facto da espécie mudar de habitat.

Os nossos resultados evidenciaram que a dobrada *Spicara melanurus* apresenta dicromatismo sexual, o que é uma característica sexual secundária, em que o macho é amarelado na época reprodutiva. O dimorfismo sexual também ocorre na época reprodutiva na espécie *Spicara smaris*, do mesmo género, que é uma hermafrodita protoginus sequencial (TORTONESE (1975) in VIDALIS & TSIMANNIDIS (1996)). O dicromatismo é uma característica sexual secundária, que proporciona a fêmea um reconhecimento mais fácil do macho (VAZZOLER, 1996). Quanto aos parâmetros morfométricos, não foi constatado dimorfismo sexual. A equação de comprimento X peso não apresentou diferença significativa entre os dois sexos, o que está de acordo com os dados encontrados para *Spicara smaris* (VIDALIS & TSIMANNIDIS, 1996).

O padrão de oogeneses da dobrada, *Spicara melanurus*, apresenta-se bastante semelhante ao descrito para outros teleosteos marinhos como *Paralichthys orbignyanus* (SILVEIRA, 1999), *Mugil platanus* (ALARCÓN, 2002) e *Syacium papillosum* (KAWAKAMI de RESENDE, 1979). No estágio de ovócito III, em que ocorre a deposição de gotículas lipidicas, vê-se que a mesma inicia-se na região mais interna do citoplasma, ou seja na região perinuclear do ovócito. Este modelo de deposição de vitelo lipidico é

descrito para outras espécies de teleósteos por CHAVES (1988). Segundo BEAMS & KESSEL (1963) a origem e deposição de vitelo pode apresentar diferenças segundo a espécie. Entretanto, GOMES *et al.* (1979) constatou que no crustáceo *Macrobrachium acanthurus* os lípidos depositados no citoplasma perinuclear tratam-se de gorduras neutras, enquanto os depositados no citoplasma cortical são fosfolípidos, ou seja, os primeiros têm função energética e os segundos têm função plásticas. Ambas as funções são essenciais a qualquer ovo, mas é possível que se manifestem de forma diferentes, quali-quantitativamente, segundo a espécie. Mas, GOMES *et al.* (1979) limitou-se a observações de carácter morfológico. Com o decorrer do desenvolvimento ovocitário do ovário da dobrada, as células germinativas alcançam a fase de desenvolvimento em que se pode observar claramente as camadas envoltórias ovocitárias e as estriações na membrana vitelínica. Segundo NAGAHAMA (1988) estas estriações são devido a canalículos, cuja função parece ser a de comunicação entre as células foliculares e o citoplasma do oócito, uma vez que as células foliculares são a fonte dos esteróides gonadais.

Quanto a vitelogenese, constata-se dois tipos de deposição vitelínica: a lipidica e a proteica. As vesículas de vitelo lipidico foram identificadas como aquelas gotículas que não foram coradas. Segundo WEST (1990), esta ausência de coloração é devida à utilização de solventes, nas preparações das lâminas de tecido, que dissolvem os lípidios. Entretanto, a vitelogenese proteica foi caracterizada pela presença de grânulos eosinófilos, que segundo vários autores (CHAVES, 1988; WEST, 1990), parecem conter vitelo composto por proteínas. Em estudos de organogenese de larvas de peixes,

detectou-se vesículas sem coloração e vesículas com coloração eosinófilas, na parede do tubo digestivo. Estas inclusões foram resultados da absoção das células absorptivas do intestino destas larvas. Entretanto Iwai (1969) indica que as vesículas sem coloração eram constituídas de lipídios e as de coloração eosinófilas correspondia a inclusões proteicas (COUSIN & LAURENCIN,1985; COSTA,2001).

Em um estágio mais avançado, os ovócitos ao atingirem o estágio citado por este trabalho, como ovócito V, apresentaram o vitelo coalescido, ou seja, como uma massa homogênea compacta eosinófila, continua. Segundo SILVEIRA(1999), a coalescência dos grãos de vitelo é uma consequência da hidratação pré-ovulatória, que ocorre no final da vitelogênese e que antecipa a eliminação dos oócitos ao meio. Segundo a mesma autora, esta hidratação dar-se porque ocorre transferência do líquido da circulação sanguínea da fêmea, promovendo assim, a coalescência dos grânulos de vitelo. CHAVES (1989) demonstra que o processo de hidratação está intimamente relacionado ao meio ambiente marinho, uma vez que nas espécies de água doce, normalmente a hidratação ocorre após a eliminação dos oócitos no ambiente. Na dobrada, após a fase de coalescência, foi observada a fase de hidratação, em que o vitelo é preenchido por vacuolos claros, e o ovócito toma uma forma irregular. Esta fase indica a iminência da desova, uma vez que segundo VAZZOLER (1996) a hidratação dos ovócitos ocorrem algumas horas antes da liberação dos ovócitos ao meio ambiente.

O desenvolvimento sincrónico em mais de 3 grupos de ovócitos leva a concluir que *Spicara melanurus* apresenta desova parcelada. Essa informação, somada ao facto desta espécie apresentar 4

épocas reprodutivas durante o ano (Janeiro e Fevereiro, abril Julho e Novembro), demonstra uma estratégia reprodutiva muito comum nos teleósteos de águas tropicais, como descrevem POTTS & WOOTON (1989). Tal estratégia aumenta a probabilidade de liberação dos ovos ocorrerem durante as condições ótimas de temperatura, corrente e disponibilidade de alimento (ERICKSON *et al.*, 1985), de serem liberados um maior número de ovócitos, o que não ocorre em espécies de desova única (WOOTON ,1992). Desta forma a perpetuação da espécie fica mais segura.

Quanto a comparação entre a escala macroscópica e microscópica, observou-se um nível de coincidência de apenas 44 %, o que sugere que a escala macroscópica não é a mais indicado para esta espécie, e que em estudos futuros seja elaborado a própria escala macroscópica para a espécie em estudo. O tamanho da primeira maturação sexual encontrado através da escala macroscópica, foi inferior ao da escala microscópica para fêmeas, 170 mm e 180mm, respectivamente. Isto pode ser um alerta aos cuidados que devemos ter ao utilizarmos escalas macroscópicas, e ao facto da mesma subestimar o tamanho da primeira maturação sexual, promovendo medidas de gestão dos estoques pouco efectivas.

Referencias bibliográficas

- ALARCÓN,, M. DEL C. S. 2002. Biologia reprodutiva da tainha *Mugil paltanus* (Gunther, 1880) do estuário da Lagoa dos Patos. Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de mestre. FURG- Rio Grande – RS. 103 p.

- ALLSOP D. J. & S. A. WEST. 2004. Sex-Ratio Evolution in Sex Changing Animals. **Evolution** 58 (5). 1019-1027 pp.
- BEAMS, H. W. & KESSEL, R. G. 1963. Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk. *The Journal of Cell Biology* 18(3): 621-643.
- CABO, F.L. 1951. Nota preliminar sull'identificazione di *Spicara samliss* L. e *Spicara alcedo* C.V. come sessi differenti de una medisma com processo di inversione sessuale. *Atti. Accadi. Naz. Lincei, Rend., Classe Sci. Fis., Mat. Nat.* (8)11,127-132.
- _____. 1953. Monographia de los Centracandidos mediterraneos, con estudo especial de la biometria, biologia y anatomia de *Spicara smalis* L. *Mem. Acad. Cienc. Madrid* 17, No.2, 1-128.
- CHAVES P. T.C. 1988. Aspectos convergentes da dinâmica ovariana nos peixes, com uma contribuição à biologia reprodutiva de 14 espécies do litoral de São Paulo. Tese de doutorado IO-USP 122p.
- COSTA M. P. V. 2001. Organogênese, Cinética digestiva e efeitos da inanição em larvas de peixe-rei marinho, *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atherinopsidae). Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de domestre. FURG- Rio Grande – RS. 103 pp.
- COUSIN, J. C. B. & LAURENCIN, B. (1985). Morphogenese de l'appariel digestif et de la vessie gazeise du turbot, *Scophthalmus maximus* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 47, p. 305-319, 1985.
- DEVLIN R.H. & Y. NAGAHAMA. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture** 208. 191-364 pp.
- DULCIC J. M. KRALJEVIC, B. GRBEC & P. CETINIC. 2000. Age, growth and mortality of blotched picarel *Spicara maema* L. (Pisces: Centracanthidae) in eastern central Adriatic. *Fisheries Research* 48 (2000) 69-78 pp.
- ERICKSON, D. L., HARRIS, M. J., GROSSMAN, G. D. 1985. Ovarian cycling of tilefish, *Lopholatilus chamaeleonticeps* Goode and Bean, from the south Atlantic Bight, U.S.A. *J. Fish Biol.* 27: 131-146.
- FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1981. FAO species identification sheets for fishery purposes: Eastern Central Atlantic Fishing Area 34 part of 47. Volume I.
- FISCHER, W., SCHNEIDER, M. & BAUCHOT, M.-L., 1987. Fishes. FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Ver.1). Méditerranée
- GURAYA S. S. 1986. The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis. Editora Karger. New York. 223p.

- INDP- Instituto Nacional do Desenvolvimento das Pescas. 2003. Boletim Estatístico – Dados sobre a pesca artesanal, pesca industrial, conservas e exportação. 12:91p.
- ISMEN A. 1995. Growth, mortalidade and per recruit modelo f picarel (*Spicara smarís* L.) on the eastern Turkish Black Sea coast. **Fisheries Research** 22: 299-308 pp.
- KAWAKAMI de RESENDE, E.1979. Estudo da distribuição, estrutura, biologia e bionomia de *Syacium papillosum* (Linnaeus, 1758), na Plataforma Continental Brasileira entre Cabo Frio (23 °S) e Torres (23 °S-29° 21'S). Tese de doutorado IO-USP 189p.
- KESTEVEN, G. L. 1960. Manual of field methods in fisheries biology. Manual fish science. FAO. N°1.1-52pp.
- KRUG L, C. 1998. Biologia Pesqueira: Manual da Disciplina. Reprodução e Crescimento. Fundação Universidade do Rio Grande. Departamento de Ocenografia. RS. Brasil.26p.
- LEPORI, N. G., 1960. Ermafroditismo proteroginico in *Maema maema* (L.) ed in *Maema dhryselis* (Cuv. E Val.) (Perciformes, Centranchidae). Boll. Pesca Piscicult. Idrobiol. (N. S.) 14: 155-165.
- LOWARTZ S.M. & F. W. H. BEAMISH. 2000. Novel perspectives in sexual lability through gonadal biopsy in larval sea lampreys. **Journal of Fish Biology**. 56: 743-757.
- LIU M. & Y. SADOVY, 2004. Early gonadal development and primary males in the protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak*. **Journal of Fish Biology** 65, 987 –1002
- MYTILINEOU C. & C. PAPACONSTANTINOU. 1991. Age and growth of *Spicara flexuosa* (Rafinesque, 1810) (Pisces, Centranchidae) in the Patraikos gulf (Grece). National Centre for Marine Research, Greece.55(3): 483-490 pp.
- NAGAHAMA , Y.1988. The functional morfology of teleosts gonads. In: HOAR, W:S: D.J. HANDALL. (ed.). *Fish Physiology*. New York, Academic Press. V. 9A. p.223-64.
- NAKAI T. & M. SANO. 2002. Evidence of protogynous hermaphroditism in the darkfin hind *Cephalopholis urodeta* (Serranidae) at Iriomote Island, southern Japan. **Fisheries Science**; 68: 697–699 pp.
- POTTS, G.W. & WOOTON, R. J. 1989. Fish Reproduction – Strategies and Tactics. London, Academic Press. 3a. ed. 410p.
- REINBOTH, .1962. weiggeschlechtlichteit bei marinen Teleostieren (Serranidae, Sparidae; Centranchidae; Labridae). Zool. Jahrb. Abt. Allgem. Zool. Physiol. Tierre 69, 405-480p.
- RUTAISSIRE J. & T. Booth. 2005. Reproductive biology of

- ningu, Labeo Victorianus (Pisces: Cyprinidae), in the Kagera and Sio Rivers, Uganda. *Environmental Biology of Fishes*. 73: 153-162pp.
- SALEKHOVA, L.P. 1979. Centranchthidae fishes of the genus *Spicara* from the Mediterranean and Black sea. (in Russian with English abstract), Haykova-Dumca (Editor), Kiev, 172 pp.
- SIAU Y. 1994. Population structure, reproduction and sex-change in a tropical East Atlantic grouper. *Journal of Fish Biology* 44:205-211 pp.
- SILVEIRA M.P.M. 1992. Ciclo Reprodutivo e Desenvolvimento Ontogenético do Linguado *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthys orbignyanus (Teleostei: Paralichthyidae) do Sul do Brasil. Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de doutor. FURG- Rio Grande – RS. 122 pp.
- TSIMENIDIS, 1999
- VAZZOLER A. E. A. M. 1996. Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos : Teoria e Prática. Editora EDUEM- Maringá- PR. 169 p.
- VIDALIS K. & N. TSIMENIDIS. 1996; Age determination and growth of picarel (*Spicara smaris*) from Cretan continental shelf (Greece). *Fisheries Research* 28: 395 – 421 pp.
- ZEI M..1951. Typical sex-reversal in Teleosts. *Proc. Zool. Soc. London*, 119: 917-920 pp.
- WEST G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fish: a review. *Aust. development in fishes: a review. Aus. J. Mar. Freshwater Res.*, 41:199-222.
- WOOTON, R.J. 1992. *Fish Ecology*, New York, Black and Hall Ltd., Chapman and Hall. 212p.
- YAMAMOTO, T. O. (1969). Sex differentiation. In *Fish Physiology*, Vol. 3 (Hoar, W. S. & Randall, D. J. eds), pp. 117-175. New York: Academic Press.
- WEEKS S. C., C. BENVENUTO & S. K. & REED. 2005. When males and hermaphrodites coexist: a review of androdioecy in animals. Oxford University Press. 1-16p.
- GOMES *et al.* (1979