

CITOARQUITETURA DO TESTÍCULO DE *Poecilia reticulata* (CYPRINODONTIFORMES, POECILIIDAE)

Fernando Santiago PIRES¹, Simone Maria Teixeira SABÓIA-MORAIS², Adriana Maria ANTUNES³, Meire Alves de FREITAS⁴, Mariane Brom SOBREIRO⁵, Thiago Lopes ROCHA⁶.

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil
fsantiagopires@gmail.com, simonesaboias@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Sistema reprodutor masculino, *Poecilia reticulata*, Histologia

Instituição de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a indústria química lançou grande quantidade de produtos químicos no mercado. Esses em sua maioria começaram a ser comercializados sem estudos significativos de seus impactos no meio ambiente e no corpo dos seres vivos. Desse, os poluentes aquáticos emergentes conhecidos como disruptores endócrinos (DE) podem alterar o desenvolvimento e a reprodução dos organismos aquáticos, uma vez que imitam em sua forma molecular, sinalizadores químicos biológicos na comunicação e respostas celulares. Esses tóxicos podem

¹ Mestrando do programa de Pós-Graduação em Biologia, área de concentração Biologia Celular e Molecular, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Bolsista CNPq.

² Professora Associada III da Universidade Federal de Goiás. Professora orientadora do programa de Pós graduação de Mestrado em Biologia – área de concentração: Biologia Celular e Molecular da UFG.

³ Mestranda do programa de Pós-Graduação em Biologia, área de concentração Biologia Celular e Molecular, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Bolsista CNPq.

⁴ Graduanda em Ciências Biológicas Bacharelado da Universidade Federal de Goiás e Bolsista de Iniciação Científica PIBIC-CNPq.

⁵ Graduanda em Ciências Biológicas Bacharelado da Universidade Federal de Goiás e Bolsista de Iniciação Científica PIBIC-CNPq.

⁶ Mestrando do programa de Pós-Graduação em Biologia, área de concentração Biologia Celular e Molecular, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Bolsista CNPq.

Resumo corrigido pela Orientadora.

modificar o comportamento e as características sexuais secundárias, além de induzirem alterações citohistológicas das gônadas de machos e fêmeas dos teleósteos, alterando também a taxa reprodutiva da espécie (Lagiano e Martinez, 2008; Leino et al., 2004; Santamarta, 2001). As histopatologias do sistema reprodutor de peixes têm recebido atenção especial no biomonitoramento da poluição aquática por DE, principalmente porque elas integram múltiplos processos celulares e fisiológicos (Ankley et al., 2009). Desse modo, faz-se necessário o estudo da histologia gonadal normal de espécies biomonitoras para padronização de análises dos efeitos tóxicos dos DE.

Dentre as espécies de peixes utilizadas para teste de toxicidade e biomonitoramento da poluição aquática, destaca-se o *Poecilia reticulata*, espécie padronizada e recomendada para análises toxicológicas pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1992). Ele é um peixe pequeno bentopelágico, não migratório, e que ocupa uma ampla gama de habitats, como estuários, lagos, pequenas valas e canais (Skelton, 1993).

Apesar de serem pequenos, apresentam alta capacidade reprodutiva, pois é uma espécie iterópara com reprodução assincrônica, tendo vários eventos reprodutivos durante o ano, indiferente a sazonalidade e fecundação interna. Os machos são sempre coloridos e insistentes à copula. A nadadeira anal é modificada em Gonopódio, órgão utilizado durante a cópula, para transferir sêmen até a cloaca da fêmea (Vazzoler, et al. 1996). O comportamento sexual envolve cômte, onde o macho se exibe para as fêmeas constantemente entre 7 a 13 vezes em 5 minutos (Dussalt e Kramer, 1980).

Nesse sentido, no presente trabalho pretendeu-se descrever a morfologia normal dos testículos de *P. reticulata* com o intuito de contribuir com conhecimentos sobre a biologia reprodutiva e evolutiva dos Poeciliidae para estudos futuros de biomonitoramento da poluição aquática por DE em mananciais no Cerrado.

MATERIAS E MÉTODOS

Nesse estudo foram utilizados animais machos adultos do guaru *P. reticulata* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) (Peter, 1985) coletados no Parque Ambiental Ipiranga (-16° 20' 5.38" S; -48° 56' 29.45" W) na cidade de Anápolis – GO, a 50 Km

de Goiânia. Após a coleta, os animais foram transportados para o Laboratório de Comportamento Celular (LCC) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e aclimatados por 20 dias em tanques de 250 litros de água doce. Durante a aclimação foram monitorados diversos parâmetros físico-químicos da água, utilizando kits da LABCON TEST e KIT MYDOR. A temperatura foi de 27°C; o pH em 6,8; o oxigênio (O₂) dissolvido a 8,0 ppm; a amônia (NH₃) a 0,002 ppm e sais nitrogenados (NO₂ e NO₃) dissolvidos a 0,2 ppm e o fotoperíodo de 12 h claro e 12 h escuro mantiveram-se constantes durante todo o processo.

Para análise da histologia gonadal, oito animais foram eutanizados por decapitação, os testículos foram dissecados e fixados por imersão em solução de Bouin (70 ml de solução saturada de ácido; 25ml de formaldeído a 40% e 5 ml de ácido acético glacial) por 4 horas. Após fixação, o material biológico foi incluído em parafina com plastificante (SEM, USA), em seguida, submetido à microtomia na espessura de 5µm e corado com Hematoxilina e Eosina (HE). As imagens das gônadas foram obtidas no fotomicroscópio LEICA DMLB - USA, com auxílio do programa VidCap.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise histológica indica que o testículo de *P. reticulata* é um órgão que apresenta dois lóbulos localizados na região posterior do corpo, na cavidade ventral. Ao microscópio, é possível diferenciar duas regiões bem definidas. A primeira é a região intersticial (ou intertubular) composto de células de Leydig, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo (túnica albugínea) que reveste o órgão. A segunda são os compartimentos tubulares (túbulos seminíferos) que são delimitados por uma membrana basal e o epitélio peritubular onde se encontram em sua luz células em diferentes estágios da espermatogênese. Esses dados estão de acordo com os descritos por Kinnberg *et al.* (2002) para o *P. reticulata*.

Os túbulos irradiam da periferia para o centro do testículo sincronicamente, conforme ocorre as fases da gametogênese masculina. Nos túbulos periféricos ao testículo, as células apresentam-se no período germinativo (espermatogônias) associadas às células de Sertoli. Na região mediana, onde ocorre o segundo estágio da espermatogênese, os túbulos possuem maior concentração celular encontrando-se no período de maturação (espermátócitos). Mais internamente, no terceiro

estágio, os espermatócitos organizam-se em cistos dando origem as espermátides. Nesses túbulos também ocorrem a espermiogênese. No centro do testículo, no quarto estágio, os túbulos apresentam espermatozóides livres ou reunidos em espermatozeugmatas, conjunto de espermatozóides com as cabeças voltadas para o epitélio tubular e as caudas para o lúmen tubular . Esses dados também estão de acordo com os descritos por Kinnberg e Toft (2002) para o *P. reticulata*.

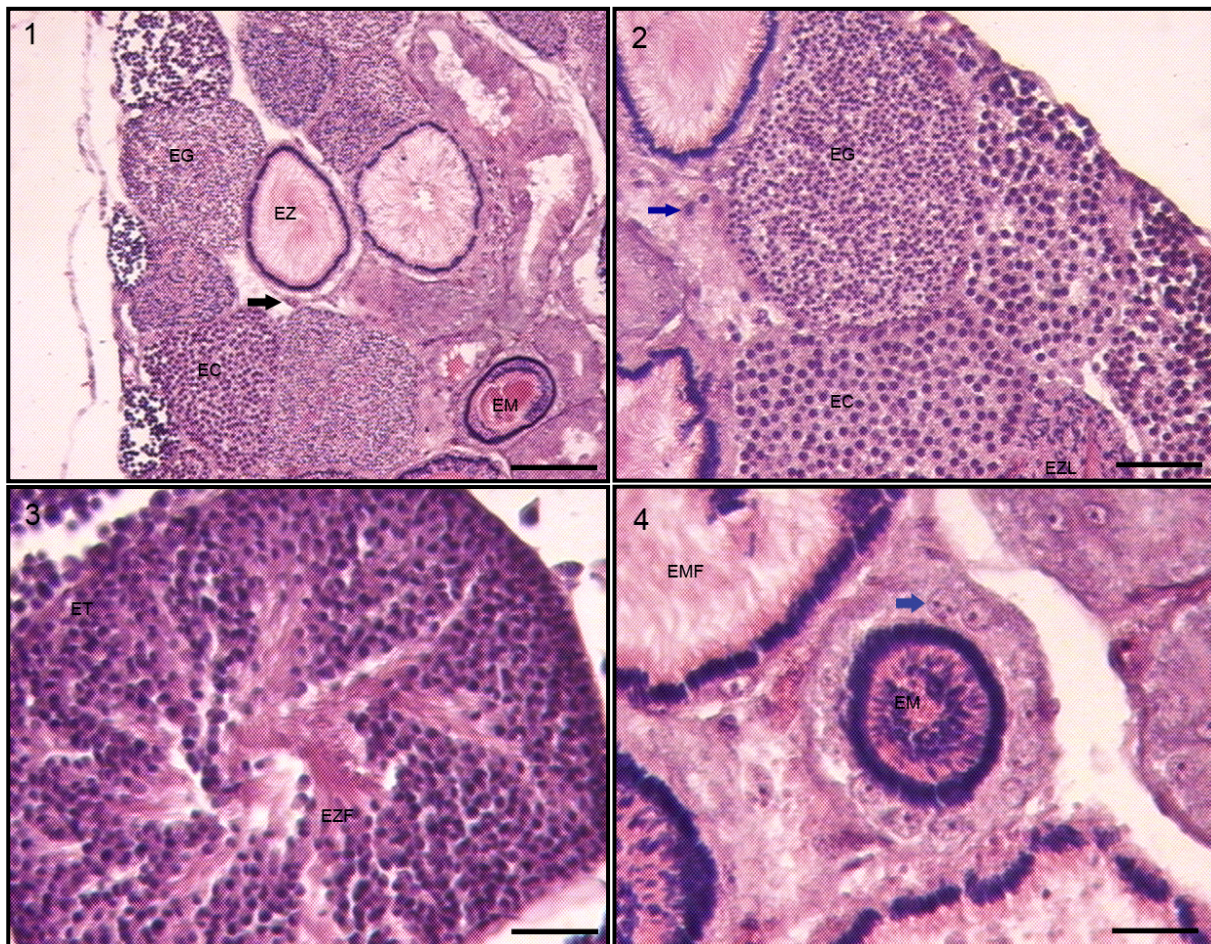


Figura 1-4: Fotomicrografias de gônadas masculinas de *Poecilia reticulata* coradas com HE. Fig.1: Fotomicrografia evidenciando os túbulos seminíferos em diferentes estágios da espermatogênese. EG: espermatogônia, EC: espermatócito, EZ: espermatozóides, EM: espermatozeugmata, seta preta: célula de Leydig. Barra=100µm. Fig.2: Diferença do diâmetro celular entre espermatogônia (EG) e espermatócito (EC); Seta preta: célula de Sertoli. Barra=50µm Fig.3: Túbulo seminífero na fase de diferenciação. ET: espermátide, EZF: espermatozóide em formação. Barra=25µm Fig.4: Espermatozeugmata envolvida em células de Sertoli (seta azul). Barra=25µm.

CONCLUSÕES

Os testículos apresentam citoarquitetura peculiar diferenciada de outros grupos de peixes com reprodução sincrônica e iteroparidade, que apresentam comportamento sexual sazonal e fecundação externa. Os túbulos seminíferos se encontram em diferentes estágios de desenvolvimento com produção contínua de

espermatozóides, característica marcante de espécies com desova contínua. (Rocha, 2011; Vazzoler, 1996).

Devido às diferenças entre os túbulos seminíferos (TS), foi possível classificá-los em quatro estágios, e cada estágio está correlacionado a uma etapa da espermatogênese. Sugere-se que a organização em espermatozeugmata facilite a transferência dos espermatozóides até o poro genital das fêmeas por meio do gonopódio, uma vez que o meio aquático poderia dispersar os gametas masculinos, diminuindo assim a eficiência da fecundação dos Poecilídeos. Além disso, o presente estudo contribuirá com conhecimentos da histologia gonadal normal do guaru para futuras análises eco e toxicológicas dos DEs sobre as espécies de teleósteos com fecundação interna.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANKLEY et al. Endocrine disrupting chemicals in fish: Developing exposure indicators and predictive models of effects based on mechanism of action. *Aquatic Toxicology* 92: 168–178. 2009.

DUSSAULT, G. V. e KRAMER, D. L. Food and feeding behavior of the guppy, *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). *Can. J. Zool.* 59: 684-701. 1980.

KINNBERG, K. e TOFT, G. Effects of estrogenic and antiandrogenic compounds on the testis structure of the adult guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54: 16–24. 2003.

KINNBERG, K; KORSGAARD, B. e BJERREGAARD P. Effects of octylphenol and 17b-estradiol on the gonads of guppies (*Poecilia reticulata*) exposed as adults via the water or as embryos via the mother. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 134: 45–55. 2003.

LANGIANO, V. C.; MARTINEZ, C. B. R. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 147: 222–231. 2008

LEINO, R.L.; JENSEN, K. M.; ANKLEY, G. T. Gonadal histology and characteristic histopathology associated with endocrine disruption in the adult fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 19: 85–98. 2005.

OECD. Guideline for testing of chemicals nº203.199 2.

ROCHA, T. L.; YAMADA, A. T.; MAZARO & COSTA, R.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. Analyses of the development and glycoproteins present in the ovarian follicles of *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). *Pesq. Vet. Bras.* 31 (1): 87-93. 2011.

SANTAMARTA, J. A Ameaça dos disruptores endócrinos. *Agroecol.e Desenv.Rur.Sustent.*, Porto Alegre 2 (3): 18 – 29. 2001.

SKELTON, P. H. A complete guide to the freshwater fishes of Southern Africa. South Africa: Southern Book Publishers, Halfway House: 388. 1993

VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM/NUPÉLIA, 3-81p. 1996.