

# HISTOMORFOLOGIA DO TESTÍCULO E EPIDIDIMO DE TUBARÕES *RHIZOPRIONODON LALANDII* (MULLER & HENLE, 1839)

Ewerton Henrique Brito Silva Cardoso<sup>1</sup>; Diego Lucas Couto Paes Barreto de Carvalho<sup>1</sup>; Leonardo Morais da Silveira<sup>1</sup>; Mariana Gomes do Rêgo<sup>1</sup>; Joaquim Evêncio Neto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - Pernambuco.  
ewertonhenrique.cardoso@gmail.com

## RESUMO

A anatomofisiologia reprodutiva dos elasmobrânquios apresenta lacunas na literatura, havendo falta de estudos acerca de diversas espécies. O objetivo deste estudo foi descrever histomorfologicamente testículos e epidídimos do tubarão *Rhizoprionodon lalandii*. Os indivíduos tiveram suas medidas e peso aferidos. Foi utilizada escala maturacional para espécies vivíparas (ICES, 2013) e os animais foram eviscerados para obtenção dos órgãos. As estruturas foram fixadas em formaldeído 10%, sendo posteriormente submetidos ao processamento histológico. Dos 14 machos, 8 foram classificados imaturos, 1 em desenvolvimento, 4 capaz de reproduzir, 1 ativos e não foi observado o estágio “regressão”. Indivíduos imaturos apresentaram testículos delgados, clasper flexível, espermatogônias e espermátocitos tipo I. Espécimes “em desenvolvimento” mostraram testículos desenvolvidos, clasper parcialmente calcificado, formação de zona germinativa com espermatogônias, espermátocitos I e II, espermátides e espermatozoides. Indivíduos capazes de reproduzir e ativo tinham claspers calcificados, testículos desenvolvidos, cistos seminíferos e espermatozoides. Epidídimos com presença de espermatozoides.

**PALAVRAS-CHAVES:** Reprodução; Espermatogênese; Elasmobrânquio; Cação.

## INTRODUÇÃO

O aparelho reprodutor de tubarões machos é composto por testículos, epidídimos, ductos deferentes, vesícula seminal, glândula oviducal e clasper, sendo este o órgão copulador (Hammett, 2005; Pratt, 1988). Os testículos são compostos por lóbulos separados por tecido conjuntivo (Matthews, 1950) e possuem função espermatogênica e hormonal (Parsons and Grier, 1992).

O testículo dos tubarões se amadurece no sentido cranial-caudal e é classificado de acordo com a estrutura da zona germinativa, podendo ser dos tipos diamétrico, radial ou composto (Matthews, 1950; Pratt, 1988). A unidade funcional testicular é o espermatocisto (Stanley, 1966), sendo esta uma estrutura esférica que abriga células da linhagem germinativa (Dodd, 1983; Parsons e Grier, 1992; Carrier et al., 2004). Durante o processo de espermatogênese, as células germinativas migram gradualmente do lúmen para a região periférica do espermatocisto. Ao final do processo, os espermatozoides são carregados através do ducto eferente e transportados para o epidídimo (Hara and Tanaka, 1990).

As espécies do gênero *Rhizoprionodon* (Whitley, 1929) podem ser encontrados nas regiões costeiras de quase todos os continentes e compreende sete espécies de pequenos tubarões (Compagno, 2005). Em águas brasileiras ocorrem as espécies *R. lalandii* (Muller & Henle, 1839) e *R. porosus* (Poey, 1861), sendo estas habitantes da plataforma continental (Compagno et al. 2005). Devido sua distribuição e habitat, as espécies do gênero *Rhizoprionodon* estão entre os tubarões costeiros mais capturados pela pesca comercial (Lessa, 1986; Motta et al., 2005). Devido importância da morfologia reprodutora para a conservação das espécies, o objetivo deste trabalho foi estudar a morfologia testicular e caracterizar o processo de espermatogênese da espécie *Rhizoprionodon lalandii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### ÁREA DE AMOSTRAGEM

Os exemplares foram obtidos por embarcações artesanais que utilizam rede de emalhar e linha de mão no litoral de São Paulo, nas áreas de São Vicente, Guarujá e praia Grande. As amostragens foram realizadas mensalmente durante o período de um ano.

### COLETA DE MATERIAL

Os animais foram acondicionados em caixas de isopor com gelo e encaminhados ao Laboratório de Etiologia de Peixes no Departamento de Pesca na UFRPE. Foram dissecados, retirando o aparelho reprodutor e houve sua classificação macroscópica em: imaturo, em desenvolvimento, capaz de reproduzir, ativo e regredindo (ICES, 2013). Os testículos e epidídimos coletados foram mensurados quanto ao seu comprimento (cm), largura (cm) e peso (g).

### ANÁLISE HISTOLÓGICA

No Laboratório de Técnicas Histopatológicas do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE, o material foi fixado em solução de formol neutro tamponado a 10% por 24 horas, em seguida clivado e refixado por mais 24 horas e transferidos para álcool a 70%. Os testículos e epidídimos foram desidratados em etanol com concentrações crescentes de 80%, 90%, 95% e etanol absoluto, diafanizados em álcool butílico, impregnados e incluídos em paraplast. Os blocos de paraplast foram cortados em micrótomo Minot (Leica), ajustado para 5 micrometros ( $\mu\text{m}$ ), com os cortes colocados em lâminas e mantidas na estufa a 37 °C durante 24 horas. Os cortes foram corados com hematoxilina/eosina-floxina. As imagens histológicas foram obtidas com um microscópio biológico Trinocular NIKON 50i, acoplado a um sistema de câmera digital usado para capturar imagens microscópicas.

## RESULTADOS

O aparelho reprodutor masculino de *Rhizoprionodon lalandii* (N=14) foi constituído por um par de testículos, epidídimos, glândula de Leydig, ductos deferentes, vesícula seminal e cláspers. Os testículos estavam presos dorso-cranialmente na cavidade corpórea, epidídimos se localizam posterior aos testículos.

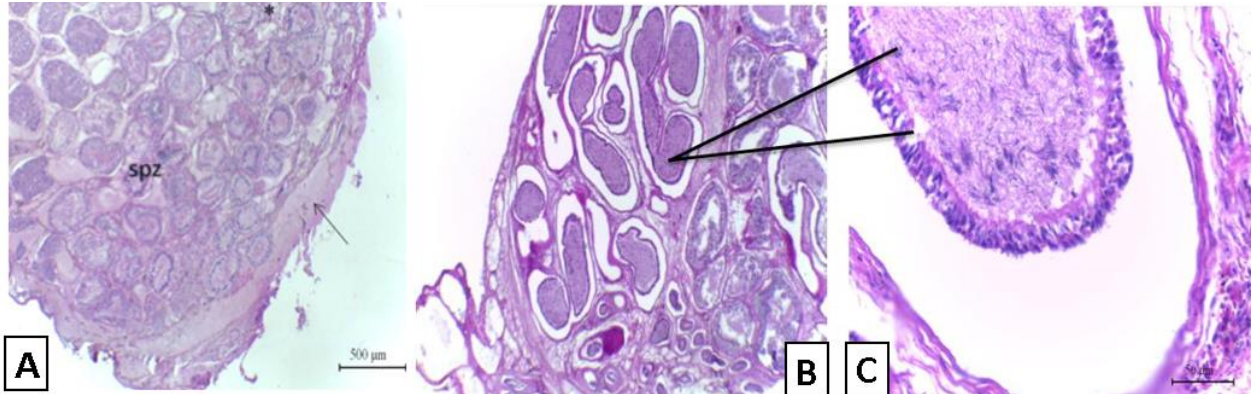
Dos catorze animais amostrados, oito se encontravam imaturos, um em desenvolvimento, quatro capazes de reproduzir e um indivíduo ativo. Não foram observados exemplares em regreção. Nos indivíduos imaturos, os cláspers estavam finos e flexíveis, não ultrapassando a nadadeira pélvica. Os testículos apresentavam largura variando de 0,1 a 0,3cm. Epidídimos estavam delgados, com largura entre 0,1 a 0,2cm. No estágio em desenvolvimento, os cláspers estavam parcialmente calcificados, e os testículos se expandiram. A largura testicular variou entre 0,3 a 0,5 cm. Epidídimos estavam evidentes e amplos variando entre 0,2 a 0,3 cm. Nos estágios capaz de reproduzir e ativo, os cláspers estavam completamente rígidos, testículos direitos e esquerdos com largura entre 0,5 a 0,7cm. Os epidídimos estavam bastante enovelados, e alargados variando entre 0,4 a 0,7 cm.

Para a espécie estudada, o testículo apresentou padrão diamétrico, caracterizado pelo amadurecimento desenvolvimento dos espermatocistos partindo da zona germinativa. Nos espermatocistos foram observadas células da linhagem espermatogênica e de Sertoli. Na região intersticial, entre os espermatocistos, houve presença de tecido conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos. No revestimento dos testículos foi possível observar a túnica albugínea (Figura 1). Foi vista a zona germinativa bem definida no envoltório testicular e cistos com a presença de espermatozoides na área marginal posterior do testículo (Figura 1). Os ductos na região apresentaram revestimento com epitélio cúbico, que se conectam com ductos eferentes e conduzem os espermatozoides para a porção cranial do epidídimo.

Histologicamente, nos testículos imaturos estavam presentes espermatocistos com espermatogônias e espermatócitos tipo 1. No estágio em desenvolvimento foi observado o início da delimitação da zona germinativa, caracterizando o padrão de desenvolvimento testicular diâmetro. Foi possível visualizar cistos com espermatócitos 1 e2, espermátides em início de alongamento (espermogênese) e o início da formação dos “clamps espermáticos”.

Em machos capazes de reproduzir e ativos, a túnica albugínea estava espessa. Todas as células da linhagem espermática foram observadas (espermatogônia, espermatócitos 1 e 2, espermatídes e espermatozóides). Entre os estágios capaz de reproduzir e ativo, foi observado uma pequena diferenciação histológica, onde no estágio ativo, há uma maior quantidade de espermatocistos, formação completa dos “clumps espermáticos” com a presença de espermatozóides se posicionando com a cabeça em direção à periferia e as caudas voltadas para o lúmen. Durante todo o período de coleta não foi observado o estágio de regressão. Durante a análise do epidídimo foi possível observar a morfologia espermática, onde a cabeça do espermatozoide possui formato liso.

**Figura 1.** Fotomicrografia de testículo e epidídimo de *Rhizoprionodon lalandii*.



Fotomicrografia dos testículos *R. lalandii*. A - Imagem geral do testículo, com seta indicando material amorfo abaixo da túnica albugínea; Sigla **spz** localizando cistos contendo espermatozóides; **Asterisco** evidenciando a zona intersticial. B - Fotomicrografia geral do epidídimo. C - Espermatozoides no interior do túbulo epididimário, evidenciando a cabeça alongada dos espermatozoides.

## DISCUSSÃO

A anatomia visibilizada é semelhante à descrita por Dodd (1983) e Carrier *et al.* (2004). O testículo diamétrico vai de concordância com Rêgo *et al.* (2016), que descreveu espécies do gênero *Rhizoprionodon*. A maturação reprodutiva acompanha o aumento da vascularização e espessamento testicular devido a maturação das células da linhagem espermática (Rêgo *et al.*, 2016).

Conforme dito por Parsons and Grier (1992), anualmente acontecem transições entre estágios reprodutivos de acordo a época de acasalamento, porém o presente estudo não identificou o estágio de regressão, indicando processo espermático contínuo e mais condizente com os achados de Motta, *et al.* (2007) e Mattos, *et al.* (2001). O aumento da rigidez do clasper é utilizada na avaliação maturacional, entretanto, Pratt (1979) observou que apenas a rigidez do clasper não era critério suficiente para determinar estágio maturacional. Os testículos de *R. lalandii* se mostraram concordantes com a descrição feita por Rêgo *et al.* (2016).

Segundo Parsons e Grier (1992), na zona germinativa dos testículos pode-se observar o amadurecimento dos cistos espermáticos através da conformação das células da linhagem espermática. A zona germinativa mantém um suprimento celular que permite a continuidade da formação de cistos espermáticos no decorrer da vida reprodutiva do animal. As células da linhagem espermática iniciam a vida livres na zona germinativa e são envolvidas por uma membrana basal para formação do espermatocisto (Parsons and Grier, 1992). Epidídimos mostraram-se túbulos tortuosos, com epitélio pseudoestratificado com células basais e cilíndricas ciliadas, corroborando Parsons and Grier (1992). Foi observado ducto epididimário nos estágios capaz de reproduzir e ativo (Rêgo *et al.*, 2016). Durante a análise do epidídimo foi observada a morfologia espermática, onde a cabeça do espermatozoide possui formato liso. A morfologia espermática de *R. lalandii* é semelhante ao descrito para as espécies *Scyllium canicula* e *S. catulua*, Metten (1939) e Moore (1895), respectivamente, que descreveram que as cabeças dos espermatozóides em linha reta. Segundo Wourms (1977), a configuração espiralada dos espermatozóides confere vantagens de movimentação, não havendo explicações acerca da morfologia espermática encontrada.

## CONCLUSÃO

Para a espécie *R. lalandii* há pouca diferença entre os estágios capaz de reproduzir e ativo, indicando que após seu desenvolvimento maturacional o animal está pronto para se reproduzir. Ausência de indivíduos em regressão pode ser explicada pelo fato de fêmeas aptas à cópula estarem presentes o ano todo, porém apenas um maior número de indivíduos e uma investigação mais detalhada elucidariam esta questão.

## REFERENCIAS

- CARRIER, J.C.; PRATT JR, H.L.; CASTRO, J.I. Elasmobranch Reproduction. In Carrier, J.C.; Musick, J.A.; Heithaus, M.R. (eds). *Biology of Sharks and Their Relatives*. CRC Press, LLC. Boca Raton. p.269-286, 2004.
- COMPAGNO, L.J.V.; DANDO, M.Y.; FOWLER, S.L. *Sharks of the world*. Princeton University Press, 2005.
- DODD, J. M. Reproduction in cartilaginous fishes (Chondrichthyes), in *Fish Physiology*, Hoar, W. S.; Randall, D. J.; Donaldson, E. M (eds.). Academic Press, New York. v. 9A, 1983.
- HAMLETT, W.C. Reproductive biology and phylogeny of Chondrichthyes: sharks, batoids and chimaeras. v. 3. p. 171-200, 2005.
- HARA, M. & TANAKA, S. An overview of Chondrichthyan seminiferous follicles using electron microscopy, in Pratt, Jr., H.L.; Gruber, S.H. & Taniuchi, T. (eds.), *Elasmobranchs as living resources: Advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries*. NOAA Technical Report NMFS, v. 90, p. 518, 1990.
- ICES. Report of the Workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranchs (WKMSSEL), 11-14 December 2012, Lisbon, Portugal. ICES cm 2012/acom, v. 59. p. 66, 2013.
- LESSA, R.P.T. Levantamento faunístico dos elasmobrânquios (Pisces, Chondrichthyes) do litoral ocidental do estado do Maranhão. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, v 7, 27–41. 1986.
- MATTHEWS, L.H. Reproduction in the basking shark, *Cetorhinus-maximus*, (Gunner). *Philos Trans R Soc B Biol Sci*, v. 234, p.247–316, 1950.
- METTEN, H. Studies on the reproduction of the dogfish. *Philosophical Transactions Royal Society Series B*, v. 230, p. 217-238, 1939.
- MOORE, J.E.S. ON the structural change in the reproductive cells during the spermatogenesis of elasmobranchs. *Quart. J. Micr. Sci.*, v. 38, p. 275-313, 1985.
- MOTTA, F. S., GADIG, O. B., NAMORA, R. C., & BRAGA, F. M.) Size and sex compositions, length–weight relationship, and occurrence of the Brazilian sharpnose shark, *Rhizoprionodon lalandii*, caught by artisanal fishery from southeastern Brazil. *Fisheries Research*, v. 74(1-3), p. 116-126, 1985.
- PARSONS G.R.; GRIER H.J. Seasonal changes in shark testicular structure and spermatogenesis. *Journal of Experimental Zoology*, v. 261, p. 173-184, 1992.
- PRATT, H. L. Elasmobranch gonad structure a description and survey. *Copeia*, v. 3, p. 719– 729, 1988.
- PRATT, H. L. Reproduction in the Blue shark, *Prionace glauca*. *Fishery Bulletin*, v. 77, p. 445-470, 1979.
- RÊGO M.G.; FITZPATRICK, J.; HAZIN; F.H.V.; ARAUJO, M.L.G; BARROS, M.E.G; NETO, J.E. Comparison of the Morphology and Histomorphometry of Spermatogenic Cyst of Three Sharks Species With Diametric Testes. *The anatomical Record*, v. 299, p. 759-768, 2016.
- WOURMS, J.P. Reproduction and development in Chondrichthyan fishes. *Amer. Zool.*, n. 17, p. 379-410, 1977.