

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

A ESPERMATOGÊNESE, ESPERMIOGÊNESE E A ULTRAESTRUTURA DOS  
ESPERMATOZÓIDES NA FAMÍLIA DORADIDAE (TELEOSTEI: SILURIFORMES)  
E SUAS IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS.

**RINALDO JOSÉ ORTIZ**

ORIENTADORA: PROFA. DRA. IRANI QUAGIO-GRASSIOTTO

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biociências da Universidade Estadual  
Paulista “Julio de Mesquita Filho”,  
Campus de Botucatu, para a obtenção do  
título de Mestre em Ciências Biológicas  
(Área de Concentração: Zoologia)

**Botucatu-SP**

**2008**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

A ESPERMATOGÊNESE, ESPERMIOGÊNESE E A ULTRAESTRUTURA DOS  
ESPERMATOZÓIDES NA FAMÍLIA DORADIDAE (TELEOSTEI: SILURIFORMES)  
E SUAS IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS.

**RINALDO JOSÉ ORTIZ**

**ORIENTADORA: PROFA. DRA. IRANI QUAGIO-GRASSIOTTO**

**CO-ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO DE OLIVEIRA**

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Estadual  
Paulista “Julio de Mesquita Filho”,  
Campus de Botucatu, para a obtenção do  
título de Mestre em Ciências Biológicas  
(Área de Concentração: Zoologia)

**Botucatu-SP**

**2008**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
*BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus*

Ortiz, Rinaldo José.

A espermatogênese, espermiogênese e a ultraestrutura dos espermatozoides na família Doradidae (Teleostei: siluriformes) e suas implicações filogenéticas / Rinaldo José Ortiz. – Botucatu : [s.n.], 2008.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2008.

Orientadora: Irani Quagio-Grassiotto

Assunto CAPES: 20400004

1. Biologia celular 2. Peixe - Reprodução

CDD 574.8

Palavras-chave: Doradidae; Espermatogênese; Espermiogênese; Espermatozói-  
de; Siluriformes

**Botucatu, 14 de março de 2008.**

**BANCA EXAMINADORA**

**Profa. Dra. Irani Quagio-Grassiotto (Orientadora)**

\_\_\_\_\_

**(Assinatura)**

**Prof. Dr. Ricardo Cardoso Benine**

\_\_\_\_\_

**(Assinatura)**

**Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini**

\_\_\_\_\_

**(Assinatura)**

## **Meus agradecimentos**

- À Profa. Dra. Irani Quagio-Grassiotto pela orientação, atenção, dedicação, amizade e pelos ensinamentos;
- Ao Prof. Dr. Claudio de Oliveira pela orientação, ajuda e amizade;
- Aos membros da Banca Examinadora pela disponibilidade e por ter aceitado fazer parte da banca;
- Ao Prof. Dr. Adilson Fansozo pela oportunidade de participar das coletas em Ubatuba, pela ajuda e pela amizade;
- Ao Departamento de Morfologia, I.B., UNESP, Botucatu pela oportunidade de realização da pós-graduação;
- Ao técnico do Laboratório de Rotina em Biologia Celular e de Reprodução de Peixes Neotropicais, Depto. de Morfologia, I.B., UNESP, Botucatu, Antônio Vicente Salvador pela amizade, incentivo, ajuda e companheirismo;
- Ao técnico do Laboratório de Biologia e Ecologia de Peixes, Depto. de Morfologia, I.B., UNESP, Botucatu, Ricardo André S. Teixeira, pela ajuda e amizade;
- Ao Centro de Microscopia Eletrônica, I.B., UNESP, Botucatu e à sua supervisora Profa. Dra. Elisa Aparecida Gregório, pela atenção e pela utilização das instalações;
- Aos técnicos do Centro de Microscopia Eletrônica, I.B., UNESP, Botucatu, Nivalde Antônio Basso, Maria Helena Moreno e Claudete dos Santos Tardivo, pela amizade e por toda ajuda prestada;
- À agência financiadora FAPESP, pelo apoio financeiro;
- Aos meus pais, Rinaldo e Lazara e à minha irmã, Cibele, pelo apoio, amor, carinho, dedicação e incentivo;
- À minha esposa, Cleozita, pelo amor, carinho, dedicação e por sempre estar ao meu lado, apoiando e incentivando;
- Ao meu tio João Paulo de Oliveira, pela ajuda nas coletas em Bertiooga;
- À Clarianna M. B. Silva, pela amizade, ajuda, bate-papo e pela diversão;
- Aos amigos do laboratório Gisleine, Júlio, Renata e Talita, pelo companheirismo;
- Aos amigos que não estão mais no laboratório, Angélica, Ariene, Fernanda, João Paulo, Rafael e Rosicleire;
- A todos que contribuíram de alguma forma.

## **SUMÁRIO**

|                                   |           |
|-----------------------------------|-----------|
| <b>RESUMO</b>                     | <b>1</b>  |
| <b>ABSTRACT</b>                   | <b>2</b>  |
| <b>INTRODUÇÃO</b>                 | <b>3</b>  |
| <b>OBJETIVOS</b>                  | <b>12</b> |
| <b>METODOLOGIA</b>                | <b>13</b> |
| <b>RESULTADOS</b>                 | <b>15</b> |
| <b>DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA</b>   | <b>25</b> |
| <b>DISCUSSÃO</b>                  | <b>53</b> |
| <b>CONCLUSÕES</b>                 | <b>58</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> | <b>59</b> |



## RESUMO

A ordem Siluriformes compreende um imenso e diversificado grupo de peixes, distribuído nas regiões tropicais de todo o mundo. Apesar de bastante estudadas, as hipóteses de relacionamento entre as famílias nessa ordem ainda são contraditórias, inclusive aquelas que dizem respeito aos Doradidae. Os Doradidae compreendem uma família de bagres de água doce, endêmica da América do Sul, facilmente reconhecíveis pela presença de uma fileira de placas ósseas em ambos os lados do corpo e podem ser separados em dois grupos segundo a presença de barbilhão maxilar simples ou ramificado. Compõem um grupo reconhecidamente monofilético, cujas relações intra-genéricas são ainda pouco definidas. Os Doradidae apresentam um complexo produtor de som compartilhado com algumas outras famílias de Siluriformes com as quais guardam diferentes níveis de relações de parentesco. O estudo das relações de parentesco entre as diferentes famílias de Siluriformes, e também entre os diferentes gêneros e espécies de uma mesma família, em geral têm por base características osteológicas e de partes moles, além de dados moleculares. Sabe-se que as características sexuais das espécies e conseqüentemente o tipo de espermatogênese e de espermiogênese, e a morfologia dos espermatozoides podem conter traços filogenéticos e serem úteis nas análises cladísticas. Portanto, nesse estudo, descreveu-se a espermatogênese, a espermiogênese e os caracteres ultraestruturais dos espermatozoides, de representantes da família Doradidae. Descreveu-se também a espermatogênese, a espermiogênese e os caracteres ultraestruturais dos espermatozoides de representantes de Auchenipteridae e Ariidae. Os dados obtidos foram testados em análises comparativas segundo as hipóteses vigentes sobre as relações de parentesco: entre os representantes dos Doradidae; entre os Doradidae e os Auchenipteridae seu suposto grupo irmão; entre os Doradoidea (Doradidae +Auchenipteridae) e o seu suposto grupo irmão-Aspredinidae; e entre os Doradidae com a família Ariidae. Os diferentes tipos de espermatogênese, espermiogênese e espermatozoides encontrados nos Doradidae refletem os diferentes grupamentos intergenéricos propostos para a família. A comparação deste mesmo tipo de dados entre Doradidae e Auchenipteridae revela poucas características compartilhadas, aparentemente devido às modificações dos espermatozoides dos Auchenipteridae ao processo de inseminação. As similaridades do tipo de espermatogênese, espermiogênese e dos espermatozoides suportam a hipótese de Aspredinidae como grupo irmão de Doradoidea e indicam uma posição basal para os Astrodoradinae em Doradidae. As características, principalmente da espermatogênese e dos espermatozoides dos Doradidae frente aos Ariidae, sugerem algum nível de relacionamento entre essas famílias.

---

***ABSTRACT***

The order Siluriformes comprises a large and diversify group of fishes, distributed throughout the Tropical regions of the world. Despite the many studies available, the hypotheses about the relationship among the families of Siluriformes are still controversial. The same occurs within the family Doradidae. Doradidae is a monophyletic family of freshwater catfishes endemic of the South America in which the inter-generic relationships are still not well definite. Doradidae are easily externally recognizable by having a single row of bony plates along the sides of the body, and they are often separated in two groups, one with simple and the other with fimbriate maxillary barbels. Doradidae have a sound apparatus shared with some other families of Siluriformes with different levels of relationship. The study of the relationship among the different families of Siluriformes and also among the different genera and species, in general, have based on bony and/or soft characteristics of the body, beside molecular data. It is known that the sexual characteristics of the species, and consequently the type of spermatogenesis and spermiogenesis, and also the sperm morphology, can have phylogenetic traces and can be useful in the cladistic analysis. In the present study were described the spermatogenesis and the spermiogenesis, and also the ultrastructural characteristics of the spermatozoa of representatives of the family Doradidae. The spermatogenesis and the spermiogenesis, and the ultrastructural characteristics of the spermatozoa of representatives of the families Auchenipteridae and Ariidae were also described. The data obtained were utilized in comparative analysis based on the actual hypothesis about relationship: within the representatives of the Doradidae; among the representatives of the Doradidae and the Auchenipteridae, its supposed sister-group; between the Doradoidea (Doradidae + Auchenipteridae) and the Aspredinidae, its supposed sister-group; and between the Doradoidea and the Ariidae. The different types of spermatogenesis, spermiogenesis and spermatozoa found in Doradidae reflect the different intergeneric groups proposed to the family. The comparison of these data between Doradidae and Auchenipteridae reveal a few shared characteristics, apparently due to the sperm modifications of the Auchenipteridae to the inseminating process. The similarities of the types of spermatogenesis, spermiogenesis and spermatozoa support the proposal that Aspredinidae and Doradoidea are sister-groups, and indicate a basal position of Astrodoradinae within Doradidae. The mainly characteristics of the spermatogenesis and spermatozoa of the Doradidae face to Ariidae suggest some level of relationship between these families.



### **Os peixes neotropicais de água doce**

É enorme a diversidade e complexidade da ictiofauna de águas continentais neotropicais, em especial as sul-americanas. Conforme Reis e colaboradores (2003) a ictiofauna de águas continentais centro e sul-americanas, com 4.475 espécies efetivamente descritas, é dominada, tanto em termos de diversidade taxonômica quanto em biomassa, por peixes da superordem Ostariophysi, série Otophysi, que alcançam aproximadamente 73% das espécies descritas, divididas primariamente entre as ordens Siluriformes (15 famílias e aproximadamente 37% das espécies) e Characiformes (14 famílias e aproximadamente 33% das espécies) e, secundariamente, a ordem Gymnotiformes (cinco famílias e aproximadamente 3% das espécies); as espécies restantes dividem-se entre a família Cichlidae - da ordem Perciformes (aproximadamente 9%), a ordem Cyprinodontiformes (aproximadamente 12%), ambas da superordem Acanthopterygii, e ainda todo um conjunto (aproximadamente 7% do total de espécies) formado por vários grupos taxonômicos. (Potamotrygonidae, Lepidosirenidae, Osteoglossidae, Engraulidae, Clupeidae, Synbranchidae, Sciaenidae, Gobiidae, Nandidae, Belonidae, Tetraodontidae etc.).

Os estudos sistemáticos dos peixes neotropicais, com base em dados morfológicos, têm-se expandido consideravelmente nos últimos anos (ver referências em MALABARBA *et al.*, 1998), principalmente após a incorporação de novas técnicas de obtenção e interpretação de dados. Entre estas técnicas está o uso da metodologia de análise filogenética, proposta inicialmente por Hennig (1966) e implementada por diversos autores. Apesar dos notáveis progressos, muito ainda resta a ser conhecido sobre a filogenia dos diversos grupos, devido à imensa magnitude da biodiversidade neotropical.

A Sistemática, estudo das relações evolutivas entre os organismos, é a área da Biologia para a qual convergem todas as demais áreas. Considerando que a história evolutiva dos organismos está associada às mudanças climáticas e geográficas ocorridas durante a história do planeta, a elucidação das relações filogenéticas entre os seres vivos permite não só o estudo da sua evolução, como também é base para estudos biogeográficos e ecológicos (FUTUYMA, 1992). O conhecimento acerca da diversidade biológica é o ponto de partida para todos os estudos básicos ou aplicados relacionados às ciências da vida e o reconhecimento de espécies, bem como a habilidade de nomeá-las, é fundamental para o estudo da ecologia, comportamento, evolução e todas as outras disciplinas relacionadas aos organismos (SAVAGE, 1995).

## **A ordem Siluriformes**

A ordem Siluriformes compreende um grupo de peixes extremamente grande, diverso e amplamente distribuído nas regiões tropicais de todo o mundo (TEUGELS, 1996; FERRARIS, 1998). Sua enorme diversidade ecológica e evolucionária a faz foco de muitos estudos (FINK e FINK, 1981; de PINNA, 1998; SULLIVAN *et al.*, 2006). A ordem Siluriformes está incluída na superordem Ostariophysi, um grupo de peixes ósseos que somam algo em torno de três quartos dos peixes de água doce do mundo.

Os peixes da ordem Siluriformes, em geral, habitam o fundo dos rios, permanecendo entre as rochas e a vegetação. Possuem formas e tamanhos extremamente variados, com hábitos predominantemente crepusculares e noturnos (FERRARIS, 1998). São caracterizados principalmente: pela total ausência de escamas sobre o corpo; presença de barbilhões e freqüentemente um acúleo forte e pungente a frente do primeiro raio das nadadeiras dorsais e peitorais, capazes de infringir graves ferimentos e em algumas espécies, injetar um veneno produzido por células glandulares localizadas no tecido epidérmico que cobre estes acúleos. O corpo desprovido de escamas pode ser revestido por uma pele espessa, popularmente conhecida como couro, ou então, coberto total ou parcialmente com placas ósseas; geralmente possuem três pares de barbilhões, provavelmente utilizados para localizar alimentos no fundo e orientar sua natação (ALEXANDER, 1965; PAXTON e ESCHMEYER, 1998).

A grande maioria dos peixes da ordem Siluriformes está presente em ambientes de água doce, sendo que apenas duas famílias, Ariidae e Plotosidae têm representantes exclusivamente marinhos. Sua distribuição parece ser limitada pela temperatura, uma vez que a maioria habita as regiões Tropical e Neotropical, e poucas são aquelas que alcançam o extremo sul da América do Sul ou o extremo norte da América do Norte (NELSON, 2006).

Apesar da importância científica e econômica dos Siluriformes, o grupo apresenta ainda inúmeros problemas sistemáticos e taxonômicos. Mesmo o consenso geral de que a família Diplomystidae constituiria o grupo irmão de todos os outros Siluriformes, tem sido questionado com base em dados moleculares (SULLIVAN *et al.*, 2006). O estudo de de Pinna (1998) sobre a sistemática de representantes de todos os principais grupos dessa ordem indicou, com base em dados morfológicos, que algumas famílias formam agrupamentos polifiléticos enquanto vários grupos tradicionais tiveram seu monofiletismo confirmado. Sullivan e colaboradores (2006), em um recente estudo dessa mesma ordem, com base em dados moleculares, recupera alguns dos grupos de de Pinna (1998), indica novos grupos e apresenta uma nova proposta de relacionamento entre estes.

## **A família Doradidae**

Os Doradidae, com espécies variando de 3,5 cm a 120 cm de comprimento, compreendem uma família de bagres de água doce, endêmica na América do Sul. São facilmente reconhecíveis pela presença de uma fileira de placas ósseas em ambos os lados do corpo, disposta na região mediana, desde a parte de trás da cabeça até a base da nadadeira caudal. No centro de cada uma dessas placas existe um espinho curvo voltado para trás. A maioria das espécies é também caracterizada por um escudo cefálico bem desenvolvido, boca subterminal, processo umeral grande e exposto, acúleos robustos e serrilhados nas nadadeiras peitorais e na dorsal, e corpo ventralmente achatado. Considerados onívoros oportunistas, pouco se sabe sobre a sua ecologia, história de vida e biologia reprodutiva (SABAJ e FERRARIS, 2003).

A revisão taxonômica dos Doradidae realizada por Eigenmann (1925) reconheceu 68 espécies válidas em 26 gêneros incluindo 9 novas espécies e 10 novos gêneros. Fernández-Yépez (1968), em revisão dos Doradidae da Venezuela, com várias descrições, resultou em um total de 16 novas espécies, 5 novos gêneros e muitos sinônimos aparentes ou questionáveis. Juntos Eigenmann (1925) e Fernández-Yepéz (1968) reconheceram 37 gêneros e aproximadamente 80 espécies em Doradidae. A família Doradidae é hoje reconhecida como constituída por 72 espécies válidas em 30 gêneros (SABAJ e FERRARIS, 2003), porém novas espécies continuam sendo descritas (SOUZA e PY-DANIEL, 2005; SABAJ, 2005).

A despeito de ser um grupo de peixes comum, bem definido e conspícuo, Doradidae até a pouco tempo atrás era praticamente desconhecido em termos das suas relações filogenéticas. Há cerca de 10 anos, na primeira análise cladística dos Doradidae, com base em 115 caracteres morfológicos (mais 85 autopomorfias), Higuchi (1992) demonstrou a monofilia do grupo e apresentou uma filogenia para 32 gêneros, três dos quais permanecem não validados. No cladograma de Higuchi (1992) *Wertheimeria* e *Franciscodoras* aparecem como grupos-irmãos sucessivos dos outros Doradidae, com o restante dos gêneros formando três clados reconhecidos como subfamílias (Platydoradinae, Astrodoradinae e Doradinae), cujo relacionamento entre si permanece não resolvido. O trabalho de Moyer e colaboradores (2004) com base em dados moleculares e morfológicos sobre as relações filogenéticas dos Doradidae confirma a monofilia do grupo, mas conflita com as com a classificação supra genérica proposta por Higuchi (1992). Somente um dos grupos intra familiar, Astrodoradinae, de Higuchi (1992) é recuperado nas análises de Moyer e colaboradores (2004).

Os Doradidae são freqüentemente separados em dois grupos facilmente reconhecíveis, um com barbilhões maxilares simples e outro com barbilhões maxilares ramificados (SABAJ e FERRARIS, 2003). Para Higuchi (1992) os Doradidae com barbilhões simples incluem as espécies mais basais e formam um grupo não monofilético enquanto os táxons com barbilhões ramificados constituem um grupo monofilético.

Uma particularidade da morfologia dos Doradidae é a presença de um complexo estrutural, uma espécie de mola elástica, que permite a produção de sons através da interação entre a bexiga natatória e modificações da região anterior da coluna vertebral, num arranjo especial envolvendo a parapofise da quarta vértebra, a bexiga natatória, músculos e ligamentos. Esta particularidade é compartilhada com a família sul-americana, Auchenipteridae e com a africana, Mochokidae, que junto com Doradidae, segundo Pinna (1998), constituem o grupo comumente referido como Doradoidea ou Doradoidei. Para este mesmo autor, a super família Doradoidea compreende o grupo monofilético formado pelos Doradidae mais Auchenipteridae (incluindo Ageinosidae e Centromochlidae) (BRISTKI, 1972; FERRARIS, 1998; CURRAN, 1989) enquanto a subordem Doradoidei inclui os Doradidae neotropicais mais os peixes africanos da família Mochokidae.

A ocorrência deste mesmo complexo produtor de som em Ariidae conduziu a proposição de um grupo monofilético entre estes e os Doradoidei (ROYERO, 1999; MO, 1991; LUNDBERG, 1993). Ocasionalmente Malapteruridae e Pangasiidae também têm sido incluídos neste grupo, porém investigações mais detalhadas são ainda necessárias para a sua confirmação (de PINNA, 1998).

No estudo de Britto (2003), por outro lado, os Doradoidei fazem parte de um clado incluindo a maioria das famílias de Siluriformes e grupo irmão de um grupo composto pelas famílias Pimelodidae e a subfamília Claroteinae, e pelas famílias Bagridae, Cranoglanididae, Austroglanididae, Pangasiidae, Schilbidae, Ancharidiidae e Ariidae, além do gênero *Horabagrus*. Numa proposta considerada pouco robusta pelo próprio autor.

Friel (1994), alternativamente propõe Aspredinidae como grupo irmão dos Doradoidei. A filogenia molecular, de Sullivan e colaboradores (2006), confirma a proposta de Friel (1994), ao considerar Aspredinidae como grupo irmão de Doradoidea (Doradidae + Auchenipteridae).

## **Os caracteres reprodutivos masculinos**

Embora o conhecimento atual sobre o padrão de relacionamento entre os Siluriformes tenha sido inferido com base em caracteres morfológicos, outros dados parecem ser potencialmente úteis no estudo do grupo. Várias das características reprodutivas das espécies podem conter traços filogenéticos. A estrutura gonadal dos Teleostei mostra diferenças marcantes entre os grupos mais basais e os grupos mais derivados, os Neoteleostei (PARENTI e GRIER, 2004). Regiões diferenciadas quanto à função, anexos, e a presença de reservatórios para o espermatozóide no aparelho reprodutor, em especial nos Siluriformes (LOIR *et al.*, 1989) constituem uma outra fonte de dados que começa a ser melhor explorada.

A espermatogênese e a ultraestrutura dos espermatozóides têm sido estudadas em vários grupos de peixes (JAMIESON, 1991; MATTEI, 1970; 1991) e a utilidade deste tipo de dado na identificação do padrão de relacionamento, particularmente entre famílias, tem sido amplamente reconhecido. Hoje, descrições detalhadas sobre os espermatozóides encontram-se disponíveis para as seguintes famílias de Siluriformes: Diplomystidae (QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2001); Cetopsidae (SPADELLA, 2004); Amblycipitidae (LEE e KIM, 1999); Aspredinidae (MANSOUR e LAHNSTEINER, 2003); Nematogenyidae (SPADELLA, 2004); Trichomycteridae (MANSOUR e LAHNSTEINER, 2003; SPADELLA, 2004); Loricariidae, (SPADELLA, 2004); Callichthyidae (SPADELLA, 2004); Clariidae (MANSOUR *et al.*, 2002); Siluridae (EMEL'YANOVA e MAKEYEVA, 1992; KWON *et al.*, 1998; LEE e KIM, 2001); Ictaluridae (JASPERS *et al.*, 1976; POIRIER e NICHOLSON, 1982; EMEL'YANOVA e MAKEYEVA, 1991; EMEL'YANOVA e MAKEYEVA, 1992); Auchenipteridae (BURNS *et al.*, 2002; BURNS e WEITZMAN, 2005); Pimelodidae (QUAGIO-GRASSIOTTO e CARVALHO, 2000; QUAGIO-GRASSIOTTO e OLIVEIRA, 2008); Bagridae (EMEL'YANOVA e MAKEYEVA, 1992; LEE, 1998; KIM e LEE, 2000; MANSOUR e LAHNSTEINER, 2003); Pseudopimelodidae e Heptapteridae (QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2005). Informações não detalhadas estão disponíveis sobre os espermatozóides de Heteropneustidae (NATH e CHAND, 1998); Malapteruridae (desenhos esquemáticos - MATTEI, 1991); Mochokidae (desenhos esquemáticos - MATTEI, 1991); Doradidae (QUAGIO-GRASSIOTTO, 2002); Schilbidae (desenhos esquemáticos - MATTEI, 1991); Ariidae (desenhos esquemáticos - MATTEI, 1991); e *Conorhynchus conirostris* (LOPES *et al.*, 2004). Não existem dados sobre os espermatozóides dos Amphiliidae; Chacidae, Plotosidae, Auchenoglanidinae, Austroglanididae, *Horabagrus*, Cranoglanididae, Pangasiidae, Claroteinae e Anchariidae.

## **O aparelho reprodutor masculino**

Nos Teleostei, e particularmente nos Siluriformes, o aparelho reprodutor masculino pode apresentar uma série de diferenciações. Os testículos variam de simples bolsas alongadas que convergem para a papila genital, a órgãos compostos por várias franjas com função predominantemente espermatogênica, contendo regiões diferenciadas com função secretora ou armazenadora de esperma. Alguns grupos chegam inclusive a apresentar estruturas similares em função a vesículas seminais, as ampolas (para revisão ver LOIR *et al.*, 1989).

A presença de regiões diferenciadas nos testículos e estruturas anexas no aparelho reprodutor parece conter traços filogenéticos (LOIR *et al.*, 1989). Apesar da potencial aplicabilidade deste tipo de dado para o conhecimento das relações de parentesco entre as espécies, informações sobre a anatomia testicular e seus anexos encontram-se disponíveis apenas em algumas das famílias de Siluriformes. Sejam elas: Helogeneidae (LOIR *et al.*, 1989), Ariidae (LOIR *et al.*, 1989), Bagridae (LOIR *et al.*, 1989; MANSOUR e LANHSTEINER, 2003), Pimelodidae (atualmente subdividida em Pimelodidae, Heptapteridae, Pseudopimelodidae e incertis sedis) (LOIR *et al.*, 1989; SANTOS *et al.*, 2001; CRUZ e SANTOS, 2004; LOPES *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2004), Loricariidae (LOIR *et al.*, 1989; MANSOUR e LANHSTEINER, 2003), Callichthyidae (LOIR *et al.*, 1989; MANSOUR e LANHSTEINER, 2003), Auchenipteridae (LOIR *et al.*, 1989; MEISNER *et al.*, 2000) e Ageneiosidae (LOIR *et al.*, 1989), Aspredinidae (MANSOUR e LANHSTEINER, 2003).

Nos Teleostei, a organização do compartimento germinativo no interior dos testículos - em lóbulos ou em túbulos - também encerra informações de caráter filogenético (PARENTI e GRIER, 2004). Os conceitos morfológicos contidos nos termos “lóbulo” e “túbulo” têm por base o formato e a maneira como o compartimento germinativo termina na periferia do testículo (GRIER, 1993).

Nos testículos lobulares, o compartimento germinativo termina em fundo cego e com formato de dedos voltados para baixo. Pode sofrer anastomoses, porém apenas na região do ducto principal. Esse tipo de organização testicular é encontrado nos Teleostei mais derivados, Percomorpha e Atherinomorpha. Nos testículos tubulares, o compartimento germinativo termina em forma de alças. Nos Teleostei mais basais, os túbulos sofrem anastomoses em diferentes alturas do órgão, principalmente na região do ducto espermático. Esse último tipo de organização testicular é denominado de tubular anastomosado (GRIER, 1993).

Já a classificação dos testículos conforme a distribuição das espermatogônias é válida somente para os testículos lobulares (GRIER, 1981; 1992). Esses podem conter

espermatogônias confinadas apenas na porção distal dos lóbulos, e serem restritos, ou apresentarem as espermatogônias distribuídas ao longo de todo o lóbulo, e serem irrestritos (GRIER, 1992). Os testículos lobulares restritos são típicos dos Atherinomorpha, enquanto que os irrestritos são encontrados nos Percomorpha (GRIER, 1993).

Parenti e Grier (2004) num levantamento recentemente concluído sobre a estrutura testicular nos Teleostei, contabilizando 136 descrições, confirmam esses dados.

### **A espermiogênese e a ultraestrutura dos espermatozóides**

Tendo por base a estrutura, organização celular e o tipo de fertilização, os gametas masculinos dos animais em geral são classificados em primitivos ou modificados. Entende-se por primitivo os espermatozóide dos animais com fertilização externa, liberados no meio aquático. Estes apresentam, numa seqüência antero-posterior: acrosoma; núcleo esférico; dois centríolos, sendo que o distal se diferencia em corpúsculo basal e dá origem ao axonema do flagelo; mitocôndrias arredondadas e pouco numerosas e flagelo contendo apenas o axonema básico do tipo 9 + 2 (FRANZÉN, 1970). Os espermatozóides dos peixes têm sido considerados como do tipo primitivo. No entanto, os estudos de Jamieson (1991) e Mattei (1991) apontam para o equívoco desta classificação e mostram que a diversidade de formas apresentadas por estes espermatozóides é imensa. Além disso, os espermatozóides tidos como primitivos estão presentes em grupos de peixes “superiores”, enquanto grupos “inferiores” apresentam espermatozóides estruturalmente considerados avançados. Ambos autores mostram também que entre os peixes, os espermatozóides do tipo primitivos são encontrados apenas entre os Neopterygii onde constituem forma dominante.

Segundo Jamieson (1991), os espermatozóides dos Neopterygii podem ter se desenvolvido secundariamente a partir de formas mais complexas. Além disso, neste grupo de peixes os espermatozóides não possuem acrosoma. Esta ausência vem acompanhada da presença da micrópila nos ovos destes animais (JAMIESON, 1991). A micrópila é uma abertura no envoltório do ovo que permite a passagem do esperatozóide no momento da fertilização (AMANZE E IYENGAR, 1990).

Conforme Mattei (1970), nos espermatozóides dos peixes, o eixo flagelar pode posicionar-se paralela ou perpendicularmente ao núcleo. Estas posições resultam da ocorrência ou não da rotação e caracteriza dois tipos de espermiogênese tipo I e II, respectivamente. Na espermiogênese do Tipo I, a espermátide jovem apresenta núcleo central, mitocôndrias esparsas pelo citoplasma, e diplosoma próximo à membrana plasmática. O centríolo distal diferencia-se em corpúsculo basal e da origem ao flagelo. O complexo

centriolar movimenta-se em direção ao núcleo, trazendo a membrana e o segmento inicial do flagelo que se invaginam. Forma-se assim um canal entre a membrana flagelar e a espermática, o canal citoplasmático. O flagelo dispõe-se tangencialmente ao núcleo e nesta face do contorno nuclear forma-se uma depressão ou fossa. O núcleo sofre uma rotação de 90° em relação ao eixo flagelar e o complexo centriolar se insere na fossa nuclear. A depressão determina a base do núcleo, região para a qual migram as mitocôndrias. Variações neste tipo de espermiogênese resultam em um canal citoplasmático pequeno ou inexistente, o mesmo ocorrendo com a fosseta ou fossa nuclear. Na espermiogênese do tipo III, recentemente descrita (QUAGIO-GRASSIOTTO e OLIVEIRA, 2008), o desenvolvimento do flagelo é medial, o núcleo não sofre rotação e a fossa nuclear e o canal citoplasmático não se formam. A espermiogênese nos Siluriformes pode ser do tipo I (QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2001) ou do Tipo III (QUAGIO-GRASSIOTTO e CARVALHO, 2000; QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2005; QUAGIO-GRASSIOTTO e OLIVEIRA, 2008).

As espermiogênese do tipo I e do tipo III resultam na formação de espermatozóides aquáticos do tipo I (JAMIESON, 1991). Em geral estes gametas possuem núcleo pequeno, de forma ovóide ou arredondada. Os centríolos, em ângulos variados, situam-se total ou parcialmente na fossa nuclear, quando esta está presente. A peça intermediária é pequena e forma um colar ao redor da região inicial do flagelo. As mitocôndrias, pequenas e pouco numerosas, situam-se no colar citoplasmático, separadas do início do flagelo por um espaço existente entre as membranas plasmáticas e flagelar, o canal citoplasmático. O flagelo apresenta o axonema clássico formado por nove duplas de microtúbulos periféricos e um par central. A membrana flagelar pode ou não apresentar 1,2 ou 3 projeções laterais ou “fins”. Variações neste tipo de espermatozóides são observadas principalmente quanto a presença e dimensão da fossa nuclear, tamanho e quantidade de mitocôndrias e número de flagelos (JAMIESON, 1991; MATTEI, 1991).

Em espécies de uma mesma família, a estrutura dos espermatozóides é bastante conservativa (BACCETTI *et al.*, 1984; JAMIESON, 1991; MATTEI, 1991; QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2003; 2005; SPADELLA, 2004), tornando sua caracterização bastante útil na identificação de padrões de relacionamento interfamiliar. Jamieson (1991) resume o conhecimento a respeito da estrutura dos espermatozóides para os diversos grupos de peixes, assinalando as modificações estruturais que ocorreram em cada linhagem. Atualmente vários grupos são suportados com base na estrutura de seus espermatozóides. Por exemplo, a monofilia da superordem Elopomorpha que é corroborada por cinco sinapomorfias derivadas da estrutura dos espermatozóides (JAMIESON, 1991).

Particularmente com relação aos Siluriformes, o estudo da espermiogênese e da ultraestrutura do espermatozóide de *Diplomystes mesembrinus*, a família até então considerada mais primitiva da ordem, mostrou que várias características encontradas nessa espécie não são encontradas nos demais Siluriformes ou em outros Ostariophysi (QUAGGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2001). Por outro lado as similaridades observadas entre o espermatozóide de *D. mesembrinus* e daqueles encontrados entre os Clupeiformes suportam a hipótese de que Clupeomorpha e Ostariophysi são grupos irmãos (QUAGGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2001). Mais, as diferenças ultraestruturais existentes entre os espermatozóides de *Conorhyncus conirostris* e aqueles dos Pseudopimelodidae, Heptapteridae e Pimelodidae (todos eles anteriormente considerados como parte da grande família Pimelodidae) suportam a proposta de Ferraris (2003) de que *C. Conirostris* não parece fazer parte de nenhuma destas três famílias.

Tem-se, portanto, que os estudos dos caracteres reprodutivos masculinos, particularmente da espermatogênese, da espermiogênese e da ultraestrutura dos espermatozóides podem ser bastante úteis para as análises das relações de parentesco entre os diferentes gêneros de Doradidae, entre os componentes da superfamília Doradoidea, e também da relação dos Doradoidei com as demais famílias de Siluriformes.

---

***OBJETIVOS***

Dado o potencial de aplicabilidade das informações sobre o sistema sexual para os estudos filogenéticos:

-descreve-se aqui a espermatogênese, a espermiogênese e a ultraestrutura dos espermatozóides de representantes dos Doradidae, pertencentes às subfamílias Astrodoradinae e Doradinae (*sensu* HIGUCHI, 1992).

-descreve-se também espermatogênese, a espermiogênese e a ultraestrutura dos espermatozóides de representantes das famílias Auchenipteridae e Ariidae;

-tendo como hipótese inicial de trabalho as filogenias propostas por Higuchi (1992) e Moyer e colaboradores (2004) para os Doradidae, testou-se com base nas características da espermatogênese, da espermiogênese e da ultraestrutura dos espermatozóides, as hipóteses de relacionamento, hoje disponíveis para o grupo;

-tendo como hipótese inicial de trabalho a separação dos Doradidae em dois grupos conforme apresentem barbilhões maxilares simples ou ramificados (SABAJ e FERRARIS, 2003), testou-se com base nas características da espermatogênese, da espermiogênese e da ultraestrutura dos espermatozóides, a validade desta separação;

-tendo como hipótese inicial de trabalho as filogenias propostas por de Pinna (1998), Britto (2003) e Sullivan e colaboradores (2006) para os Siluriformes, testou-se com base nas características da espermatogênese, da espermiogênese e da ultraestrutura dos espermatozóides, as hipóteses de relacionamento, hoje disponíveis para os Doradoidea (Doradidae + Auchenipteridae) e também suas supostas relações com os Ariidae.

***METODOLOGIA***

---

## Materiais

Foram coletados exemplares machos, sexualmente maduros, representantes da família Doradidae nas bacias hidrográficas da América do Sul, principalmente na Bacia do Rio Paraná. As amostras de *Trachelyopterus striatulus* (Auchenipteridae) foram gentilmente cedidas por Alberto Akama, a partir de espécimens coletados no Rio Jucuriçu, Município de Alcobaça, Bahia. Foram também coletados exemplares da família Ariidae, na região costeira de São Paulo, que foram utilizados como grupo externo. Os machos sexualmente maduros tiveram o aparelho reprodutor retirado, e conservado para análise.

## Métodos

Após os exemplares coletados terem sido anestesiados com uma solução de benzocaína obtida a partir da diluição de 0,5g de benzocaína em 5 ml de álcool absoluto e 5 L de água, estes foram dissecados para a retirada dos testículos. A maioria dos exemplares utilizados foi subsequentemente fixada em formos 10%, conservada em álcool 70% e depositada na coleção de peixes do Laboratório de Biologia de Peixes, Departamento de Morfologia, Instituto de Biociências, UNESP, São Paulo, como espécimens-testemunho.

Os testículos foram seccionados transversalmente na região mediana e fixados em solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% em tampão fosfato Sorensen, 0,1M a pH 7,2 por pelo menos 24 horas. Os testículos selecionados foram então processados para a análise ao microscópio eletrônico de transmissão, seguindo o protocolo:

- *lavagem em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 (3x de 15 minutos);*
- *pós-fixação em solução de tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão, no escuro (2 horas);*
- *lavagem em água destilada (3x de 5 minutos);*
- *contrastação em bloco com solução aquosa de acetato de uranila 0,5% (2 horas);*
- *desidratação em seqüência crescente de soluções de acetona;*
- *embebição em mistura de resina Araldite® e acetona 100% (12 horas);*
- *embebição em resina pura na estufa à 37° C (1 hora);*
- *inclusão em resina pura e polimerização em estufa à 60° C (72 horas).*

Os cortes semifinos (0,5 µm), confeccionados em micrótomo Leica RM 2165, equipado com navalha de vidro, foram corados com solução de azul de metileno 1% em solução de bórax 1% e examinados em microscópio fotônico para seleção das áreas específicas para o estudo ao microscópio eletrônico de transmissão.

Após esta análise, os blocos contendo o material selecionado foram desbastados e em seguida feitos os cortes ultrafinos. Estes foram obtidos no ultramicrótomo Leica Ultracut

UCT, equipado com navalha de diamante, coletados em telas de cobre, sem filme suporte e contrastados em acetato de uranila a partir de uma solução saturada preparada em etanol 50%, por 20 minutos, no escuro. Após lavagem por várias vezes em álcool 50%, o material sofre nova contrastação em citrato de chumbo por 20 minutos, seguida de lavagem, por várias vezes, em água destilada. Os cortes assim preparados foram observados ao Microscópio Eletrônico de Transmissão Philips – CM 100 e fotografados em filme 35mm da Kodak (Eastman 5302). As cópias fotográficas foram feitas em papel fotográfico da Kodak (Kodabrome RC Print). Com base nas elétron-micrografias obtidas, foram descritas as características ultraestruturais da espermiogênese e dos espermatozoides das espécies das famílias anteriormente mencionadas.

**Tabela 1** – Lista das espécies utilizadas neste estudo e dos seus respectivos locais de coleta.

| FAMÍLIA         | ESPÉCIE                           | LOCALIDADE   |
|-----------------|-----------------------------------|--|
| Ariidae         | <i>Genidens genidens</i>          | Bertioga, SP<br>S24°03' W47°59'                                    |
| Doradidae       |                                   |  |
|                 | <b>Subfamília</b>                 |  |
| Astrodoradinae  | <i>Anadoras weddellii</i>         | Região do Rombado, afluyente Poconé, MT<br>S16°25,680' W56°25,143' |
| Doradinae       | <i>Rhinodoras dorgibnyi</i> ,     | Rio Cuiabá, Ponte velha – Porto, MT<br>S15°61' W56°10'             |
|                 | <i>Pterodoras granulosus</i> ,    | Rio Cuiabá, Ponte velha – Porto, MT<br>S15°61' W56°10'             |
|                 | <i>Oxydoras kneri</i>             | Rio Cuiabá, Ponte velha – Porto, MT<br>S15°61' W56°10'             |
|                 | <i>Trachydoras paraguayensis</i>  | Região do Rombado, afluyente Poconé, MT<br>S16°25,680' W56°25,143' |
| Auchenipteridae | <i>Trachelyopterus striatulus</i> | Rio Jucuriçu Município de Alcobaça, BA<br>S17°04' W40°04'          |

***RESULTADOS***

---

## ARIIDAE

### *Genidens genidens*

#### **Espermatogênese**

A espermatogênese em *Genidens genidens* é semi-cística. O desenvolvimento das células germinativas até a meiose ocorre no interior de cistos no epitélio germinativo. Finda a meiose os cistos se abrem e liberam as espermátides na luz do compartimento luminal dos testículos. As espermátides recém liberadas dos cistos formam conjuntos de células interconectadas por pontes citoplasmáticas. As espermátides perdem as pontes citoplasmáticas e diferenciam. A diferenciação é assincrônica, e espermátides bem como espermatozóides convivem no compartimento luminal do testículo (fig.01 A).

#### **Espermio gênese**

Em *G. genidens* as espermátides iniciais, interconectadas pelas pontes citoplasmáticas, tem formato arredondado, núcleo esférico com cromatina descondensada, poucas mitocôndrias e algumas vesículas no citoplasma. As mitocôndrias concentram-se num dos pólos da célula onde se encontra o complexo centriolar. No complexo centriolar, os centríolos são paralelos um ao outro e não estão ancorados na membrana plasmática. Em *G. genidens* cada centríolo dá origem a um axonema (Fig.02 A-D). As espermátides perdem as pontes citoplasmáticas tornam-se individualizadas e diferenciam-se. Com a perda das pontes citoplasmáticas o núcleo, assume uma posição lateral em relação aos centríolos e às mitocôndrias, enquanto os axonemas alongam dando origem ao flagelo. O desenvolvimento flagelar ocorre, portanto, lateralmente ao núcleo (fig.02 A). O núcleo sofre uma rotação em relação aos centríolos. O movimento de rotação faz com que os centríolos e axonemas assumam uma posição medial em relação ao núcleo (fig.02 B). O núcleo como um todo se movimenta em direção aos axonemas e em sua região interna forma-se uma concavidade, a fossa nuclear, que passa a abrigar os centríolos e o início dos axonemas, e também parte das mitocôndrias (fig.02 B, C). A cromatina em condensação confere um aspecto heterogêneo ao núcleo que em corte médio/sagital tem aspecto de ferradura (fig.02 B, C). A massa citoplasmática contendo as mitocôndrias concentra-se ao redor dos axonemas formando a peça intermediária. Uma vez que os centríolos não migram em direção ao núcleo e que não existe movimentação da massa citoplasmática em direção ao flagelo, o canal citoplasmático não se forma. (fig.02 C).

### Espermatozóide

O espermatozóide de *Genidens genidens* tem núcleo ovóide contendo cromatina altamente condensada e fossa nuclear moderadamente profunda (fig.02 E,F). Apenas uma estreita faixa citoplasmática desprovida de organelas, circunda o núcleo na região da cabeça. A fossa nuclear medialmente posicionada em relação ao núcleo é ampla e abriga os centríolos, paralelos um ao outro, o segmento inicial dos axonemas e eventuais partes de mitocôndrias (fig.02 E-I). A peça intermediária é curta, simétrica em relação ao núcleo e não possui canal citoplasmático. Contém poucas mitocôndrias grandes e alongadas dispostas ao redor dos axonemas (fig.02 E, F, J). A peça intermediária torna-se estreita na sua extremidade final, os axonemas se justapõem um ao outro e envoltos pela membrana flagelar dão origem ao flagelo (fig.02 E, K). O flagelo é único e contém os dois axonemas, com o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos, e a membrana flagelar não tem expansões alares ou “fins” (fig.02 K,L). Os dois axonemas inicialmente juntos um do outro se afastam, mas continuam compartilhando a mesma membrana flagelar. Conseqüentemente o flagelo inicialmente estreito, torna-se achatado e alarga-se em direção a extremidade final, a semelhança da cauda de um castor (fig.02 K,L e M).

DORADIDAE: Astrodoradinae *Anadoras weddellii*

#### Espermatogênese

A espermatogênese em *Anadoras weddellii* é semi-cística. O desenvolvimento das células germinativas até a meiose ocorre no interior de cistos no epitélio germinativo. Finda a meiose os cistos se abrem e liberam as espermátides na luz do compartimento luminal dos testículos. As espermátides recém liberadas dos cistos formam conjuntos de células interconectadas por pontes citoplasmáticas. As espermátides perdem as pontes citoplasmáticas e diferenciam. A diferenciação é assincrônica, e espermátides bem como espermatozóides convivem no compartimento luminal do testículo (fig.03 A-C).

#### Espermiogênese

Em *A. weddellii* as espermátides iniciais, estão interconectadas pelas pontes citoplasmáticas, tem formato arredondado, núcleo de contorno irregular contendo cromatina descondensada, poucas mitocôndrias e poucas vesículas no citoplasma. O complexo centriolar tem posição medial em relação ao núcleo, os centríolos são paralelos um ao outro e estão ancorados na membrana plasmática. As espermátides perdem as pontes citoplasmáticas, tornam-se individualizadas e diferenciam-se (fig.04 A-C). Em *A. weddellii* cada centríolo dá origem a um axonema e o desenvolvimento dos flagelos ocorre medialmente ao núcleo (fig.04 A-B). A rotação nuclear não ocorre. O núcleo como um todo se movimenta em direção aos flagelos alongando-se. Internamente forma-se uma concavidade, a fossa nuclear, a qual passa a abrigar os centríolos e um amplo segmento da região inicial do flagelo (fig.04 C-H). A cromatina em condensação confere um aspecto heterogêneo ao núcleo que em corte médio/sagital tem aspecto de ferradura (fig.04 E-H). Como os centríolos estavam ancorados na membrana plasmática e com a movimentação do núcleo, e conseqüentemente da massa citoplasmática em direção aos flagelos formam-se os canais citoplasmáticos, um para cada um dos flagelos (fig.04 G-H). A massa citoplasmática contendo as mitocôndrias forma a peça intermediária do futuro espermatozóide (fig.04 C,G).

### Espermatozóide

No espermatozóide de *A. weddellii* o núcleo em forma de sino, contém cromatina altamente condensada e fossa nuclear muito profunda. Apenas uma estreita faixa citoplasmática desprovida de organelos paralelos um ao outro, uma ampla região dos segmentos iniciais dos flagelos e respectivos canais citoplasmáticos (fig.05 A,D,G,H). As poucas mitocôndrias têm formato ovalado e distribuem-se internamente na fossa nuclear ladeando os canais citoplasmáticos, e são também encontradas na peça intermediária (fig.05 B,H,E). Apenas uma estreita faixa citoplasmática separa as membranas dos canais citoplasmáticos na região em que correm paralelos (fig.05 H-K). A peça intermediária é longa e simétrica em relação ao núcleo, e termina-se em duas longas bainhas citoplasmáticas, uma para cada flagelo. Uma grande quantidade de vesículas alongadas e dilatadas entremeadas por estreitas faixas citoplasmáticas preenche totalmente a peça intermediária (fig.05 B,D,J). Os dois flagelos têm início no topo do núcleo e são individualizados pelos respectivos canais citoplasmáticos (fig.05 A,D, G-K). Cada um dos flagelos contém internamente o axonema, com o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos, e a membrana flagelar não tem expansões alares ou “fins” (fig.05 C,F).

### **DORADIDAE: Doradinae**

A espermatogênese, a espermiogênese e os espermatozóides de representantes da subfamília Doradinae foram analisadas em espécies pertencentes a quatro gêneros diferentes *Rhinodoras dorgibnyi*, *Pterodoras granulosus*, *Oxydoras kneri* e *Trachydoras paraguayensis*.

Em todas as espécies analisadas a espermatogênese é cística e, portanto, a diferenciação das espermátides ocorre no interior dos cistos localizados no epitélio germinativo. Ao final do processo de diferenciação os cistos se abrem e liberam os espermatozóides para o interior do compartimento luminal dos testículos. A espermiogênese foi analisada em *Rhinodoras dorgibnyi*, *Pterodoras granulosus* e *Oxydoras kneri* e como obedece um mesmo padrão, encontra-se descrita considerando o conjunto das espécies analisadas. A espermiogênese em *Trachydoras paraguayensis* tem características que a distinguem das demais espécies analisadas e encontra-se descrita em separado.

Os espermatozóides foram analisados nas quatro espécies. Os espermatozóides de *Rhinodoras dorgibnyi*, *Pterodoras granulosus* e *Oxydoras kneri* são bastante semelhantes entre si e serão descritos no seu conjunto para suas diferenças possam ser adequadamente ressaltadas. O espermatozóide de *Trachydoras paraguayensis* tem características que o distinguem das demais espécies analisadas e encontra-se descrito em separado.

#### **A espermiogênese** *Rhinodoras dorgibnyi*, *Pterodoras granulosus* e *Oxydoras kneri*

Nas espermátides iniciais das espécies de Doradinae analisadas o núcleo é esférico com cromatina descondensada, e o complexo centriolar, com o centríolo proximal anterior e perpendicular ao distal, está posicionado lateralmente ao núcleo. O desenvolvimento flagelo ocorre lateralmente ao núcleo a partir do centríolo distal, que se diferencia em corpúsculo basal (figs.06 A; 07 A; 09 A). Ao longo da espermiogênese o núcleo sofre uma rotação em relação ao eixo flagelar, conseqüentemente o complexo centriolar e o flagelo assumem uma posição medial em relação ao núcleo. Acompanhando a rotação nuclear, na região do núcleo voltada para o complexo centriolar forma-se uma depressão, a fossa nuclear (figs.07 B; 09 B). Nas espécies estudadas a fossa nuclear é moderada e passa a abrigar o centríolo proximal e parte do distal. No núcleo a condensação da cromatina ocorre de forma progressiva e homogênea. O complexo centriolar não migra em direção ao núcleo e o canal citoplasmático surge por ocasião do deslocamento da massa citoplasmática em direção ao eixo flagelar quando da formação da peça intermediária. Na peça intermediária estão as mitocôndrias e vesículas em formação. (figs.06 B; 07 C; 09 C).

#### **O espermatozóide** de *Rhinodoras dorgibnyi*, *Pterodoras granulosus* e *Oxydoras kneri*

Nos espermatozóide de *R. dorgibnyi*, *P. granulosus* e *O. kneri* o núcleo é esférico, com fossa nuclear moderadamente profunda, contém cromatina homogênea e altamente condensada, com áreas elétricas-lúcidas (figs.06 C,D; 08 A; 10 A-C). Em *P. granulosus* o topo

do núcleo é o ocupado por uma ampla região lúcida provavelmente formada durante a condensação da cromatina (fig.08 A), enquanto as áreas elétricas-lúcidas, dispersas na cromatina condensada são maiores e ocorrem em maior quantidade no núcleo do espermatozóide de *O. kneri* (fig. 10 C) . Uma estreita faixa de citoplasma, desprovido de organelas, envolve o núcleo. A fossa nuclear é ramificada e posicionada medialmente ao núcleo abriga o centríolo proximal, e parte do distal. No complexo centriolar, o centríolo proximal é anterior e perpendicular ao distal. Material elétrico denso envolve os centríolos que estão conectados entre si, ao envoltório nuclear e à membrana plasmática por fibrilas de ancoragem (figs.06 C,D; 08 A,B; 10 A-D) Nas três espécies peça intermediária, possui inúmeras vesículas, é curta, média em largura e ligeiramente assimétrica (figs.06 C,D; 08 A,B; 10 A-D). A peça intermediária é, no entanto, progressivamente maior considerando *P. granulosus* (fig.10 A,B), *R. dorgibnyi* (fig.06 C,D) e *O. kneri* (fig.10 A,B), nessa ordem. A assimetria é decorrente da distribuição desigual das mitocôndrias que tendem a concentra-se em um dos lados da peça intermediária. As mitocôndrias são poucas, situam-se nos dois terços anteriores da peça intermediária, ao redor do centríolo distal, e da região inicial do flagelo do qual estão separadas pelo canal citoplasmático (figs.06 E-G; 08 D,E; 10 F-H). Comparativamente os espermatozóides de *P. granulosus* (fig.08 C-E) possuem mitocôndrias ligeiramente alongadas, menores e em maior número, cerca de dez, do que *O. kneri* (fig.10 E-H) cujas mitocôndrias são maiores, ovóides e em menor número, cerca de 5. *R. dorgibnyi* (fig.06 E,G) possui mitocôndrias mais alongadas. As inúmeras vesículas alongadas existentes concentram-se na periferia e no terço distal da peça intermediária (figs.06 E-G; 08 D,E; 10 F-H). Considerando as espécies analisadas as vesículas são progressivamente mais numerosas em *P. granulosus* (fig.08 D,E), do em *R. dorgibnyi* (fig.06 E-G) e em *O. kneri* (fig.10 F-H), nessa ordem. No flagelo, o axonema contém o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos e a membrana flagelar não possui expansões alares ou fins (figs.06 B-inset; 08 C; 10 I).

#### **A espermiogênese *Trachydoras paraguayensis***

Nas espermátides iniciais em *T. paraguayensis* o núcleo é esférico com cromatina descondensada, e o complexo centriolar, ancorado na membrana plasmática, numa posição ligeiramente excêntrica em relação ao núcleo. O flagelo que se desenvolve a partir do

centríolo distal, diferenciado em corpúsculo basal, tem conseqüentemente uma posição também ligeiramente excêntrica em relação ao núcleo (fig.11 A). A rotação nuclear não ocorre, a fossa nuclear não se forma, o citoplasma contendo as organelas desloca-se para região ao redor do complexo centriolar dando origem à peça intermediária. No complexo centriolar situado próximo ao núcleo, o centríolo proximal é ligeiramente anterior e oblíquo em relação ao centríolo distal. Grandes vesículas dilatadas formam-se nas proximidades do centríolo distal, e projetam-se em direção ao flagelo dando origem ao canal citoplasmático (fig.11 BC).

#### **O espermatozóide de *Trachydoras paraguayensis***

Nos espermatozóide de *T. paraguayensis* o núcleo é esférico, contém cromatina homogênea e altamente condensada, com algumas áreas elétron-lúcidas. A fossa nuclear está ausente. Uma estreita faixa de citoplasma, desprovido de organelas, envolve o núcleo (fig.11 D,E). No complexo centriolar, o centríolo proximal é ligeiramente anterior e oblíquo em relação ao distal. Material elétron denso envolve os centríolos que estão conectados entre si, ao envoltório nuclear e à membrana plasmática por fibrilas de ancoragem. Do centríolo distal diferenciado em corpúsculo basal, parte o flagelo. O flagelo é ligeiramente excêntrico em relação ao núcleo (fig.11 D,F). A peça intermediária conseqüentemente é ligeiramente assimétrica e concentra no seu terço anterior a massa citoplasmática contendo as organelas enquanto os dois terços posteriores são constituídos por grandes vesículas dilatadas que se projetam em direção ao flagelo (fig.11 D,G-K). O canal citoplasmático estende-se ao longo da peça intermediária desde o seu ponto de origem a partir do centríolo distal até a extremidade final da peça intermediária (fig.11 D,J,K,M). As mitocôndrias bastante alongadas concentram-se na massa citoplasmática do terço posterior da peça intermediária ao redor do complexo centriolar, sendo encontradas na interface com as vesículas (fig.11 F-H, L) No flagelo, o axonema contém o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos e a membrana flagelar não possui expansões alares ou fins (fig.11 D, M).

#### **AUCHENIPTERIDAE**

Em *Trachelyopterus striatulus* a espermatogênese é cística e, portanto, a diferenciação das espermátides ocorre no interior dos cistos localizados no epitélio germinativo. Nos cistos os espermatozóides são agrupados formando espermatozeugmatas e assim liberados para o

compartimento luminal dos testículos. Os espermatozeugmatas constituem conjunto de espermatozóides alinhados no sentido do comprimento e mantidos numa formação coesa por material extracelular secretado pelas células de Sertoli (figs.12 A,B; 14 D).

### **Espermio gênese em *Trachelyopterus striatulus***

As espermátides iniciais de *T. striatulus* possuem núcleo esférico, com cromatina descondensada e o complexo centriolar, com o centríolo proximal anterior e perpendicular ao distal, posicionado lateralmente ao núcleo. O desenvolvimento do flagelo ocorre lateralmente ao núcleo a partir do centríolo distal, que se diferencia em corpúsculo basal (fig.13 A). Ao longo da espermio gênese o núcleo sofre uma rotação em relação ao eixo flagelar, e conseqüentemente o complexo centriolar e o flagelo assumem uma posição aproximadamente medial em relação ao núcleo. Acompanhando a rotação nuclear, o núcleo alonga-se e na região voltada para o complexo centriolar forma-se uma depressão, a fossa nuclear. Durante o alongamento o núcleo torna-se arqueado antes de assumir uma disposição linear (fig.13 B-D). A massa citoplasmática movimenta-se em direção ao flagelo, dá origem à peça intermediária, e alonga-se acompanhando o alongamento nuclear (fig.13 E). Na peça intermediária as inúmeras mitocôndrias alongadas concentram-se de forma desigual ao longo do flagelo, estando separadas deste pelo canal citoplasmático. A concentração das mitocôndrias num círculo incompleto ao redor do canal citoplasmático torna a peça intermediária - que se afila na extremidade distal - assimétrica (fig.13 S-H). Concomitantemente ao alongamento da célula, a cromatina condensa e confere ao material nuclear um aspecto granuloso (fig.13 J,K). Nas espermátides alongadas, na periferia da peça intermediária, junto à membrana plasmática, organiza-se uma camada de microtúbulos que acompanha o círculo incompleto formado pelas mitocôndrias. A camada de microtúbulos projeta-se em direção ao núcleo, circundando-o de forma incompleta e avança para além da região da fossa nuclear. A peça intermediária termina de forma desigual com a região que contém as mitocôndrias sendo mais longa do que a outra (fig.13 M-P). No flagelo, o axonema contém o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos e a membrana flagelar não possui expansões alares ou fins (fig.13 L).

### **Espermatozóide de *Trachelyopterus striatulus***

Os espermatozóides de *T. striatulus* possuem núcleo afilado, muito longo e com contorno circular, envolvido por uma estreita faixa de citoplasma, desprovido de organelas. No topo do núcleo continua a cromatina homogênea e altamente condensada, existe uma área

elétron-lúcida delimitada pelo envoltório nuclear. Várias outras pequenas áreas elétron-lúcidas podem ser encontradas dispersas na cromatina (fig.14 A-C, F). Na transição entre o núcleo e a peça intermediária, uma fossa nuclear rasa e ligeiramente assimétrica abriga o complexo centriolar. No complexo centriolar, o centríolo proximal é anterior e oblíquo em relação ao distal. A partir do centríolo distal ancorado na membrana plasmática, projeta-se o flagelo. A peça intermediária é longa, assimétrica e desigual em comprimento. A assimetria é gerada pela concentração desigual das mitocôndrias num círculo incompleto ao redor do canal citoplasmático. À semelhança de um fraque, a peça intermediária na região em que as mitocôndrias estão concentradas é mais longa e acompanha o flagelo como que formando uma cauda (fig.14 E-G, M). A partir do núcleo, logo acima da fossa nuclear e ao longo de toda a peça intermediária, na periferia e junto à membrana plasmática, uma camada de microtúbulos, também num círculo incompleto, acompanha a região ocupada pelas mitocôndrias, até o seu término (fig.14 H,I,M). As mitocôndrias são muito longas e contorcidas no sentido longitudinal (fig.14 I). No flagelo, o axonema contém o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos e a membrana flagelar não possui expansões alares ou fins (fig.14 J,K,M).

## **DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA**

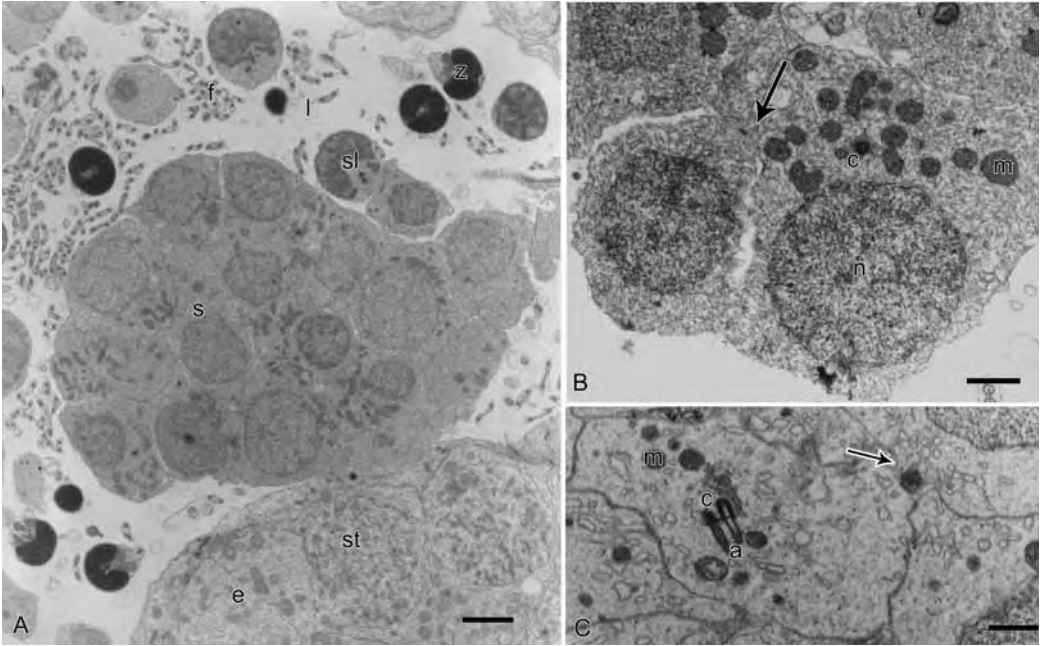
*Genidens genidens* (Ariidae)

### **Figura 01**

Cortes de testículo de *Genidens genidens*. **A:** Note as espermátides iniciais (s) formando um conjunto e as espermátides livres (sl) e em diferenciação, bem como os

espermatozoides (z) no compartimento luminal (l) do testículo. No epitélio germinativo (e) os cistos contêm apenas espermatogônias e espermatócitos (st). barra= 3,1 $\mu$ m. **B:** Espermátides iniciais conectadas por amplas pontes citoplasmáticas (seta). Centríolos (c); Mitocôndrias (m); Núcleo (n). barra= 1,0 $\mu$ m. **C:** Corte de espermátides iniciais na região que dará origem à peça intermediária do futuro espermatozoide. Note os centríolos (c), os axonemas (a), mitocôndrias (m) e a ponte citoplasmática (seta). barra= 1,0 $\mu$ m.

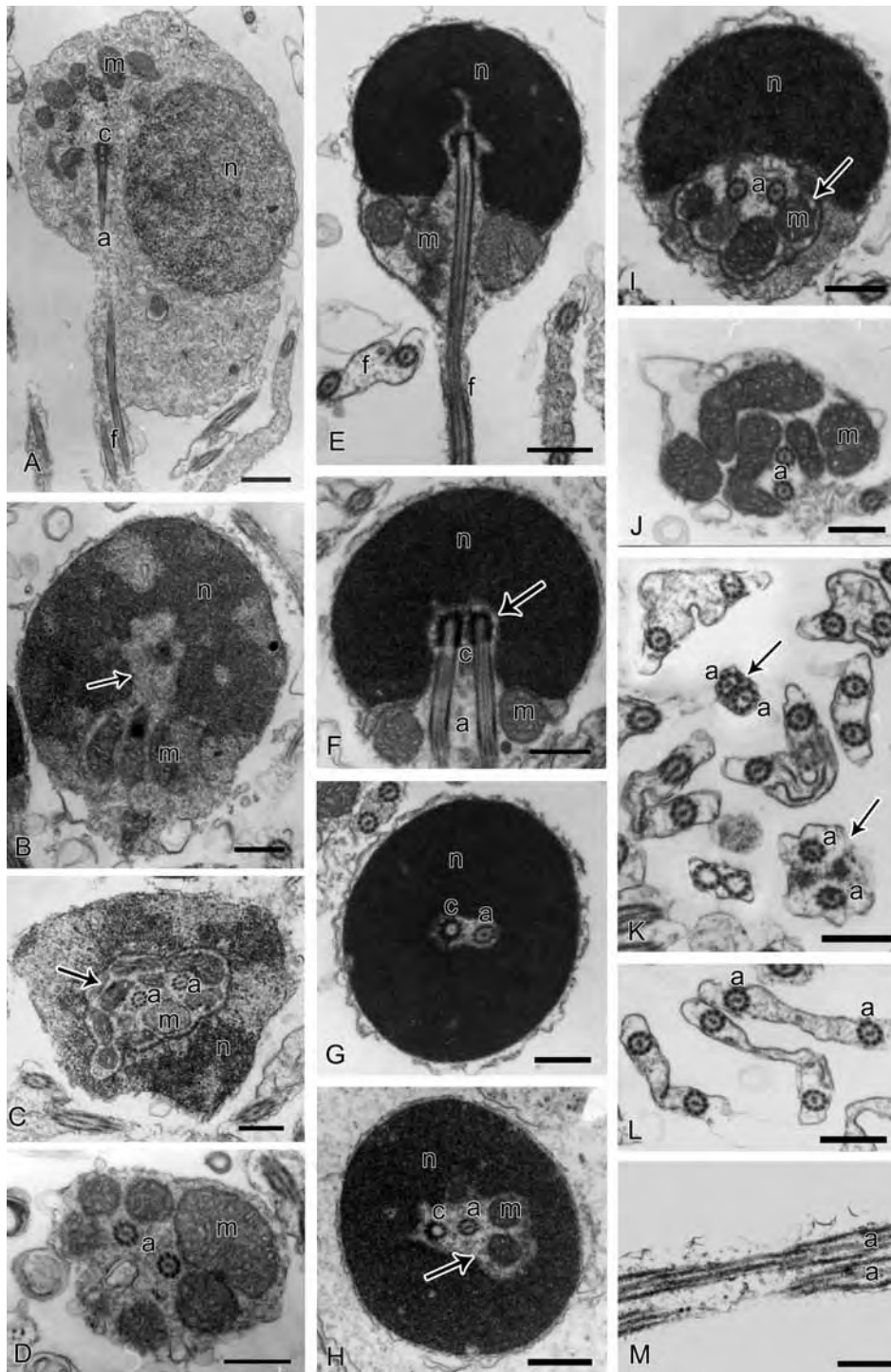
**Figura 01**



## Figura 02

**A:** Espermátide inicial de *Genidens genidens*. Note o núcleo (n) lateral aos centríolos (c) e conseqüentemente aos axonemas (a), e às mitocôndrias (m), bem como o alongamento do flagelo (f). barra= 1,0 $\mu$ m. **B-D:** Espermátide em diferenciação, cujo núcleo (n) contém cromatina com áreas de maior e menor condensação, fossa nuclear (seta) abrigando o início do axonema (a) e parte das mitocôndrias (m). Na peça intermediária as mitocôndrias (m) distribuem-se ao redor dos axonemas (a). **B:** barra= 0,588 $\mu$ m. **C:** barra= 0,6 $\mu$ m. **D:** barra= 0,6 $\mu$ m. **E:** Vista lateral num corte médio/sagital de um espermatozóide *G. genidens*. Note o núcleo (n) ovóide, a peça intermediária curta (seta) e a ausência de canal citoplasmático. Flagelo (f); Mitocôndrias (m). barra= 0,7 $\mu$ m. **F:** Vista frontal num corte médio/sagital da região da cabeça e da peça intermediária de um espermatozóide. Note o núcleo (n) ovóide, a fossa nuclear (seta), abrigando os centríolos (c) e a região inicial dos axonemas (a), e as mitocôndrias (m) na peça intermediária. barra= 0,6 $\mu$ m. **G-H:** Cortes oblíquos de núcleos dos espermatozóides expondo a fossa nuclear (seta) que abriga os centríolos (c) e os axonemas (a). **G:** barra= 0,6 $\mu$ m. **H:** barra= 0,7 $\mu$ m. **I:** Corte oblíquo do núcleo e da peça intermediária de um espermatozóide expondo fossa nuclear (seta), axonemas (a) e mitocôndrias (m). barra= 0,6 $\mu$ m. **J:** Corte transversal da peça intermediária de um espermatozóide. Note as mitocôndrias (m) ao redor dos axonemas (a). barra= 0,6 $\mu$ m. **K:** Cortes transversais do final da peça intermediária e segmento inicial do flagelo de um espermatozóide. Note o progressivo estreitamento da peça intermediária (seta) e a aproximação dos axonemas (a). barra= 0,6 $\mu$ m. **L-M:** Cortes transversal e longitudinal do flagelo com os axonemas (a) distantes um do outro. **L:** barra= 0,6 $\mu$ m. **M:** barra= 0,4 $\mu$ m.

Figura 02

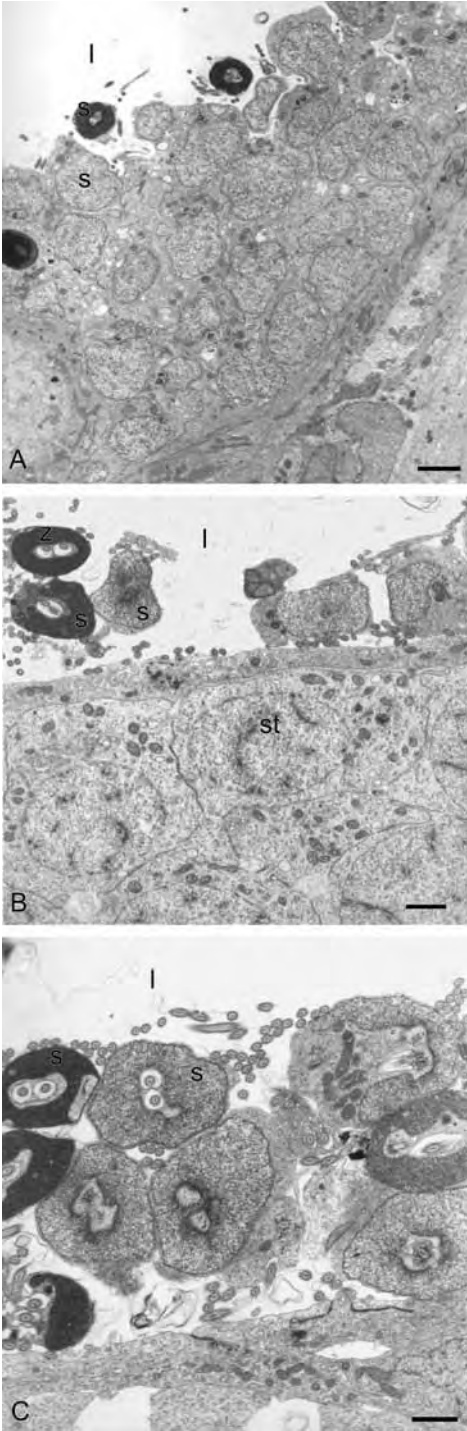


*Anadoras weddellii* (Doradidae: Astrodoradinae)

**Figura 03**

Cortes de testículo de *Anadoras weddellii*. **A:** Note as espermátides iniciais (s) formando um conjunto, bem como espermatozóides livres (z) no compartimento luminal (l) do testículo. Epitélio germinativo (e). Lúmen (l). Espermatozóide (z). barra= 2,3µm. **B:** No epitélio germinativo (e) os cistos contem apenas espermatogônias e espermatócitos (st). barra= 0,7µm. **C:** Espermátides (s) em diferenciação e espermatozóides (z) livres no compartimento luminal (l) do testículo. Note que a diferenciação é assincrônica. Epitélio germinativo (e). barra= 1,0µm.

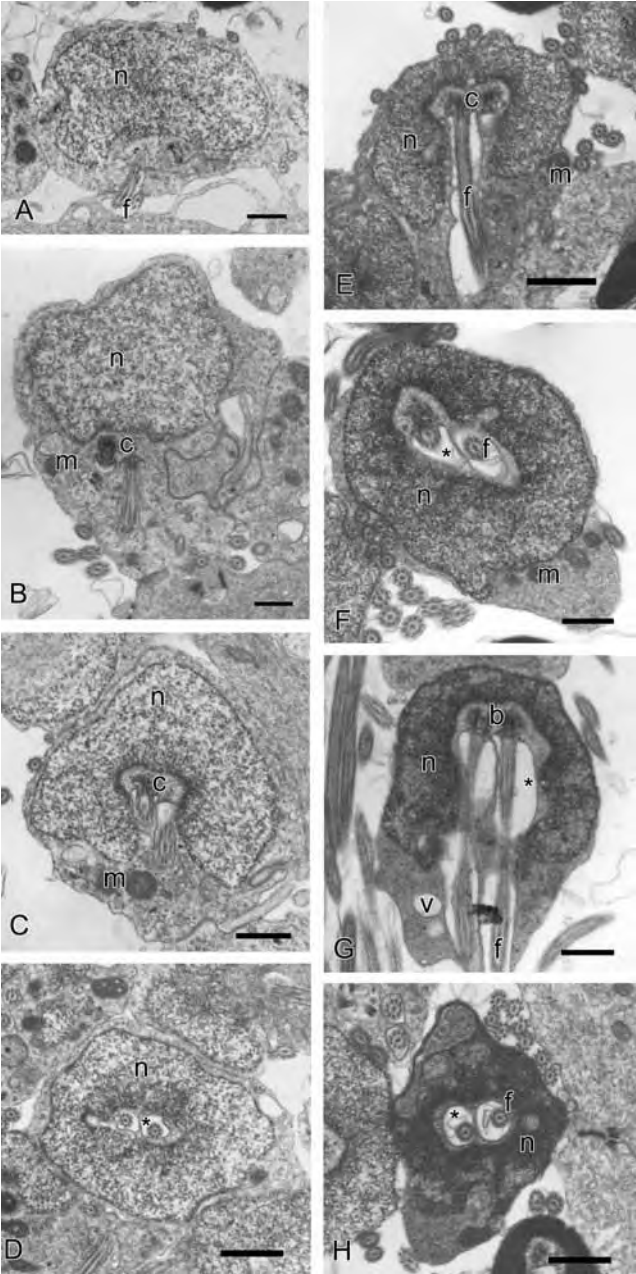
**Figura 03**



#### **Figura 04**

Diferenciação das espermátides em *Anadoras weddellii*. **A-B**: Espermátides iniciais com centríolos (c) e flagelos (f) em formação, medialmente posicionados em relação ao núcleo (n). Mitocôndrias (m). **A**: barra= 0,7 $\mu$ m. **B**: barra= 0,6 $\mu$ m. **C, E, G**: Vistas frontais em cortes médio/sagitais da região do núcleo e da peça intermediária de espermátides em diferenciação. Note a movimentação do núcleo (n) em relação aos flagelos (f) e a formação da fossa nuclear (seta), que abriga os centríolos (c) e o início dos flagelos (f). Peça intermediária (seta); Mitocôndrias (m); Vesícula (v) **C**: barra= 0,7 $\mu$ m. **E**: barra= 1,3 $\mu$ m. **G**: barra= 0,7 $\mu$ m. **D, F, H**: Cortes ligeiramente oblíquos a transversais do núcleo (n) de espermátides em diferenciação. Note a fossa nuclear (seta) e os flagelos (f) e respectivos canais citoplasmáticos (asterisco). **D**: barra= 1,7 $\mu$ m. **F**: barra= 0,6 $\mu$ m. **H**: barra= 0,7 $\mu$ m.

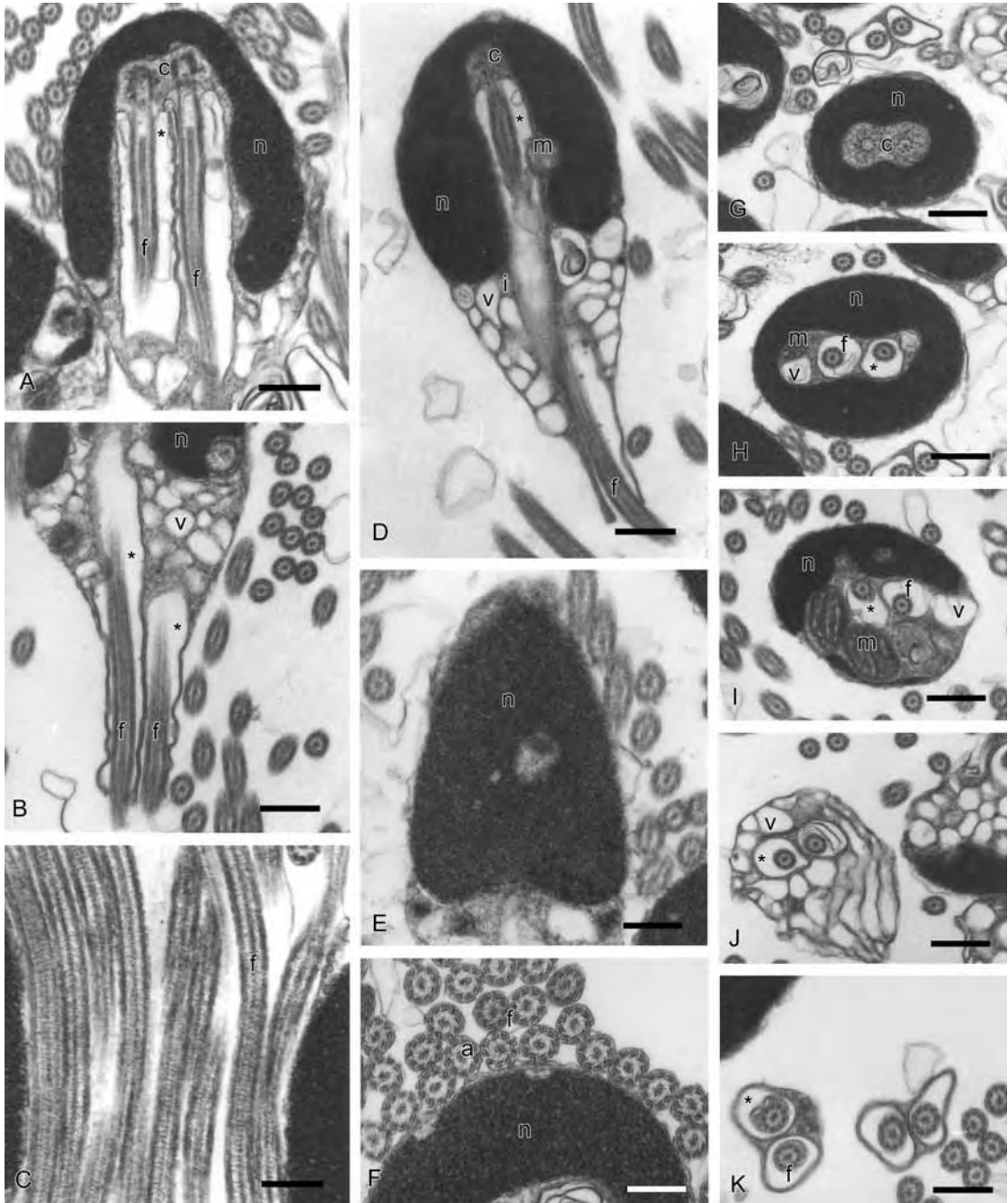
Figura 04



### **Figura 05**

Espermatozóide de *Anadoras weddellii*. **A:** Vista frontal num corte médio/sagital da região da cabeça de um espermatozóide. Note o núcleo (n) em forma de ferradura, a ampla fossa nuclear (seta), os centríolos (c) no topo do núcleo, e os segmentos iniciais dos flagelos (f) individualizados pelos respectivos canais citoplasmáticos (asterisco). barra= 0,6µm. **B:** Vista frontal num corte médio/sagital da região da peça intermediária de um espermatozóide. Note as vesículas (v) preenchendo a peça intermediária, mitocôndrias (m) esparsas, a bainha citoplasmática (cabeça de seta) e os dois flagelos (f) individualizados pelos respectivos canais citoplasmáticos (asterisco). barra= 0,6µm. **C:** Corte longitudinal da região médio/distal dos flagelos (f). barra= 0,4µm. **D:** Vista lateral num corte médio/sagital de um espermatozóide. Note um dos flagelos (f) desde de seu início na fossa nuclear (seta) no topo do núcleo (n), a peça intermediária (i) preenchida pelas vesículas (v), bainha citoplasmática (cabeça de seta) ao seu término. barra= 0,6µm. **E:** Vista externa do núcleo (n). barra= 0,5µm. **F:** Corte transversal da região médio/distal dos flagelos (f). Note a organização dos microtúbulos formando o axonema (a). Núcleo (n). barra= 0,4µm. **G-I:** Cortes transversais em diferentes alturas de núcleos dos espermatozóides. Note ao longo da fossa nuclear (seta), os centríolos (c) no topo, e as mitocôndrias (m) ladeando os flagelos (f) e seus respectivos canais citoplasmáticos (asterisco). Vesícula (v). **G:** barra= 0,6µm. **H:** barra= 0,6µm. **I:** barra= 0,6µm. **J,K:** Cortes transversais em diferentes alturas da peça intermediária dos espermatozóides. Note as vesículas (v) tubulares e dilatadas que preenchem a região inicial da peça intermediária, as bainhas citoplasmáticas (cabeça de seta) na região distal e os flagelos (f) em seus respectivos canais citoplasmáticos (asterisco). **J:** barra= 0,6µm. **K:** barra= 0,4µm.

Figura 05

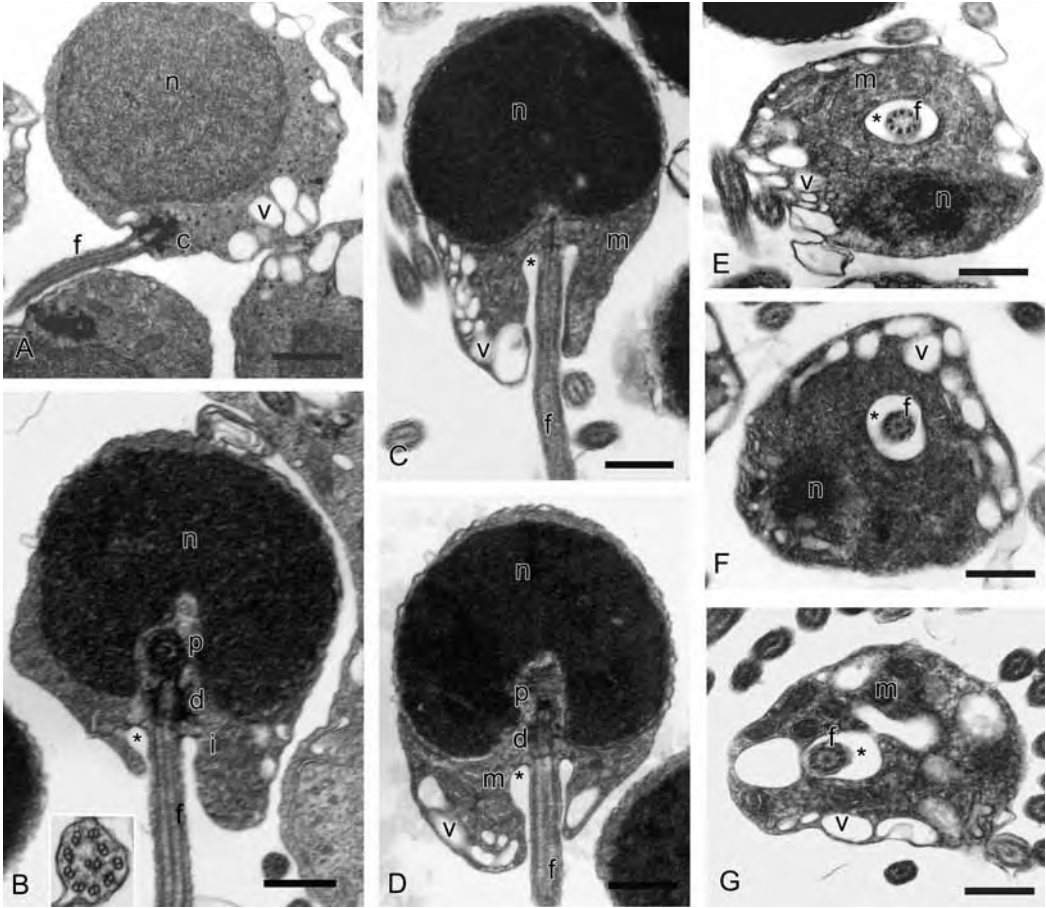


**(Doradidae: Doradinae)**

**Figura 06**

Espermátides e espermatozóides de *Rhinodoras dorgibnyi*. **A:** Corte longitudinal de uma espermátide inicial com núcleo (n) contendo cromatina descondensada, o complexo centriolar (c) lateral ao núcleo e ancorado na membrana plasmática. Note a formação de vesículas (v) e o flagelo (f) em desenvolvimento. barra= 0,7µm. **B:** Corte médio/sagital de uma espermátide final com núcleo (n) contendo cromatina condensada, centríolo proximal (p) e parte do distal (d) inseridos na fossa nuclear (seta), e a peça intermediária (i) em formação. Note o canal citoplasmático (asterisco). barra=0,434µm Inset: Corte transversal do flagelo contendo o axonema com o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos. barra= 0,2µm. **C-D:** Cortes longitudinal e médio/sagital de espermatozóides. Note o núcleo (n) com cromatina altamente condensada, o centríolo proximal (p) e parte do distal (d) inseridos na fossa nuclear (seta), a distribuição das vesículas (v) na peça intermediária, as mitocôndrias (m), o canal citoplasmático (asterisco) e o flagelo (f). **C:** barra= 0,4µm. **D:** barra= 0,4µm. **E-G:** Cortes transversais em diferentes alturas da peça intermediária. Note a distribuição das vesículas (v) e das as mitocôndrias (m), o canal citoplasmático (asterisco) e o flagelo (f). **E:** barra= 0,4µm. **F:** barra= 0,4µm. **G:** barra= 0,4µm.

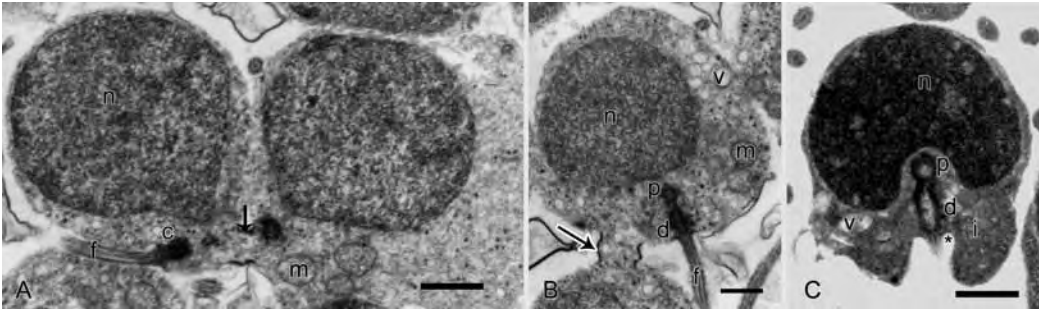
Figura 06



### **Figura 07**

Cortes longitudinais de espermátides de *Pterodoras granulosus*. **A:** Espermátides iniciais com núcleo (n) contendo cromatina descondensada, o complexo centriolar (c) lateral ao núcleo e ancorado na membrana plasmática e o flagelo (f) em desenvolvimento. Ponte citoplasmática (seta). barra= 0,7 $\mu$ m. **B:** Com a rotação nuclear o flagelo (f) assume uma posição medial em relação ao núcleo (n). Complexo centriolar com o centríolo proximal (p) anterior e perpendicular ao distal (d). Ponte citoplasmática (seta). barra= 0,6 $\mu$ m. **C:** Espermátide com núcleo (n) contendo cromatina em condensação, fossa nuclear ainda em formação e já abrigando o centríolo proximal (p) e o topo do distal (d). Com o deslocamento da massa citoplasmática em direção ao flagelo (f) forma-se a peça intermediária (i) e o canal citoplasmático (asterisco). Vesículas (v).barra= 0,6 $\mu$ m.

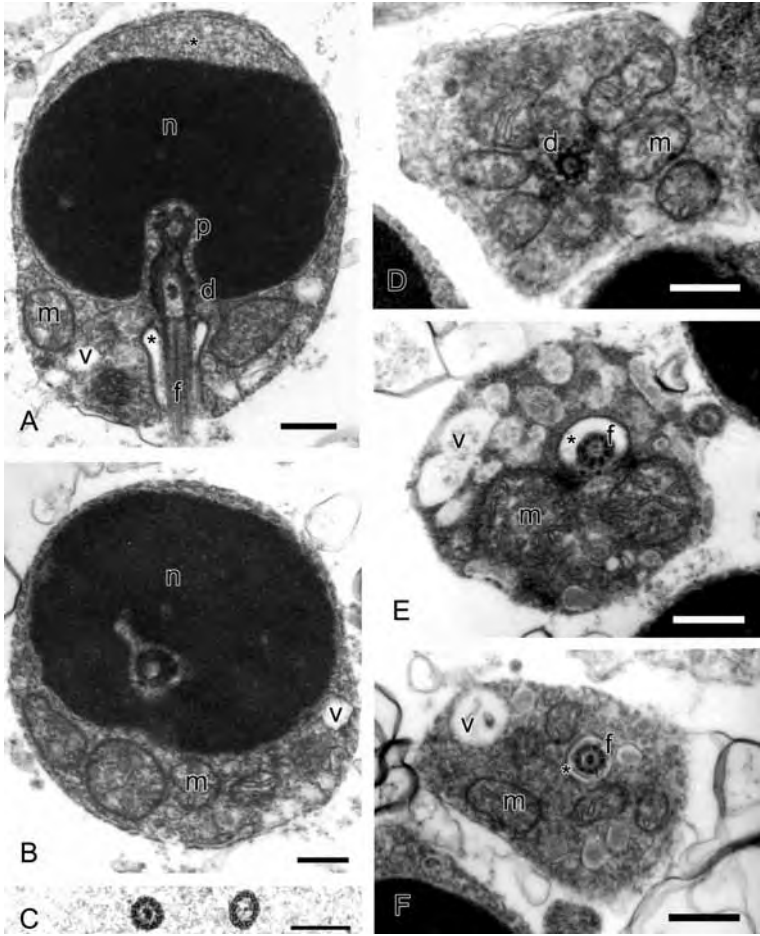
**Figura 07**



### **Figura 08**

Espermatozoides de *Pterodoras granulosus*. **A:** Corte médio/sagital de um espermatozoide. Note o núcleo (n) com cromatina altamente condensada, e uma área elétron-lúcida (asterisco) no topo, o centríolo proximal (p) e parte do distal (d) inseridos na fossa nuclear (cabeça de seta), a distribuição das vesículas (v) na peça intermediária, as mitocôndrias (m), o canal citoplasmático (asterisco) e o flagelo (f). barra= 0,3µm. **B:** Corte oblíquo da região da cabeça e da peça intermediária. Note a ramificação (seta) da fossa nuclear, e a distribuição das mitocôndrias (m) na base do núcleo (n). Vesículas (v). barra= 0,3µm. **C:** Corte transversal do flagelo (f) contendo o axonema constituído pelo arranjo clássico de 9+2 microtúlos (cabeça de seta) e a perda dos microtúbulos centrais na região distal (seta). barra= 0,3µm. **D-F:** Cortes transversais em diferentes alturas da peça intermediária. Note as microfibrilas (cabeça de seta), uma para dupla periférica de microtúbulos, que ancoram o centríolo distal (d) modificado em corpúsculo basal, a distribuição das vesículas (v) e das mitocôndrias (m), o canal citoplasmático (seta) e o flagelo (f). **D:** barra= 0,4µm. **E:** barra= 0,4µm. **F:** barra=0,4µm.

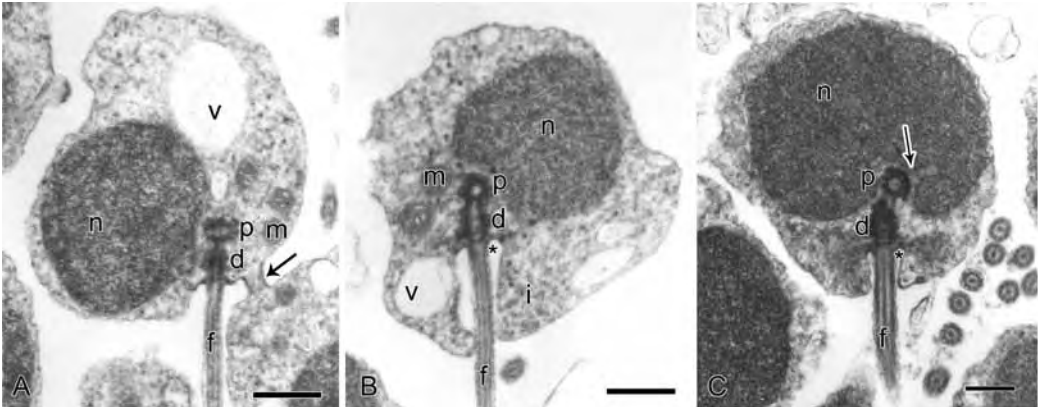
Figura 08



### **Figura 09**

Espermátides de *Oxydoras kneri* em corte longitudinal. **A:** Espermátide inicial com núcleo (n) contendo cromatina descondensada, o complexo centriolar (c) lateral ao núcleo e ancorado na membrana plasmática e o flagelo (f) em desenvolvimento. Note a posição também lateral da massa citoplasmática e as vesículas (v) em formação. Complexo centriolar com o centríolo proximal (p) anterior e perpendicular ao distal (d). Ponte citoplasmática (seta). Mitocôndria (m) barra= 0,7 $\mu$ m. **B:** Com a rotação nuclear o flagelo (f) assume uma posição medial em relação ao núcleo (n). A massa citoplasmática desloca-se em relação ao flagelo (f) formando a peça intermediária (i). Centríolo proximal (p); Centríolo distal (d); Mitocôndria (m); Vesículas (v); Canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,7 $\mu$ m. **C:** Espermátide com núcleo (n) contendo cromatina em condensação, fossa nuclear (seta) ainda em formação e abrigando apenas o centríolo proximal (p). Centríolo distal (d); Canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,4 $\mu$ m.

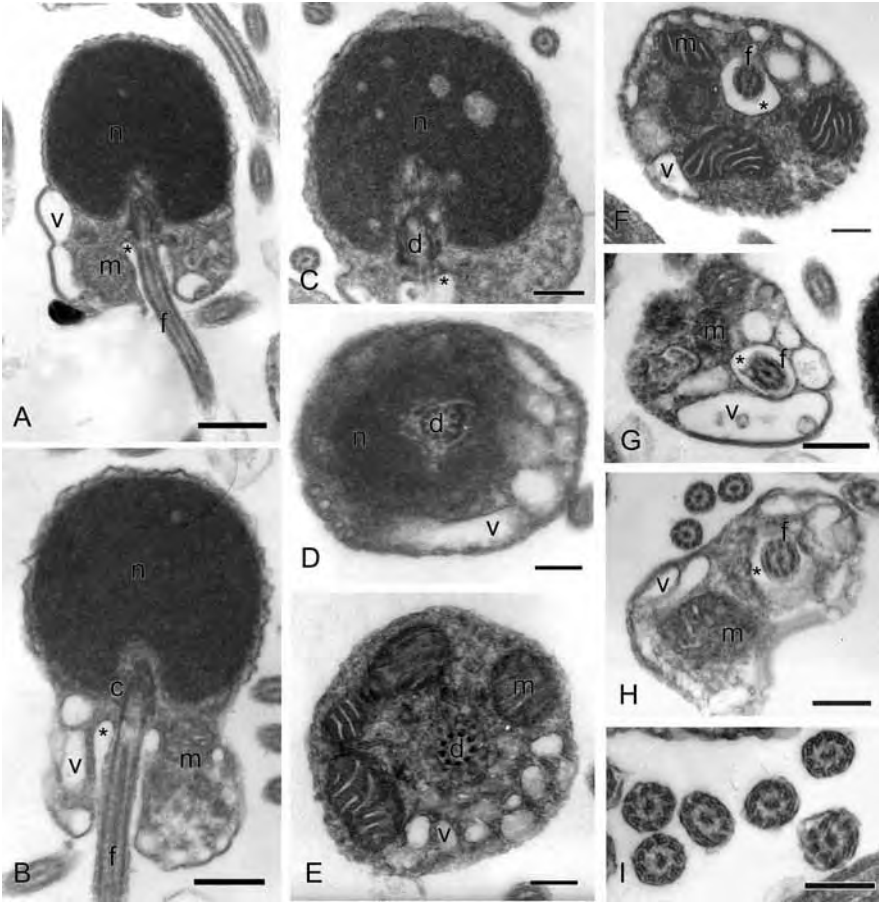
**Figura 09**



### **Figura 10**

Espermatozoides de *Oxydoras kneri*. **A-B**: Corte médio/sagital de espermatozoides em diferentes posições da peça intermediária. Note o núcleo (n) com cromatina altamente condensada, o complexo centriolar (c) parcialmente inserido na fossa nuclear (cabeça de seta), a distribuição das vesículas (v) na peça intermediária, as mitocôndrias (m), o canal citoplasmático (asterisco) e o flagelo (f). **A**: barra= 0,6µm. **B**: barra= 0,4µm. **C**: Corte longitudinal da região da cabeça e parte da peça intermediária. Note a ramificação (seta) da fossa nuclear, e as áreas elétron-lúcidas (cabeça de seta), dispersas por entre a cromatina altamente condensada. Núcleo (n); Centríolo proximal distal (d); Canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,3µm. **D-H**: Cortes transversais em diferentes alturas da peça intermediária. Note o centríolo distal (d), modificado em corpúsculo basal e inserido na fossa nuclear (seta), localizada na base do núcleo (n), a distribuição das mitocôndrias (m) ao redor do centríolo distal (d), a distribuição periférica e terminal das vesículas dilatadas e tubulares (v), o canal citoplasmático (asterisco) e o flagelo (f). **D**: barra= 0,8µm. **E**: barra= 0,8µm. **F**: barra= 0,8µm. **G**: barra= 0,3µm. **H**: barra= 0,8µm. **I**: Cortes transversais de flagelos (f) contendo o axonema constituído pelo arranjo clássico de 9+2 microtúbulos (cabeça de seta). barra= 0,8µm.

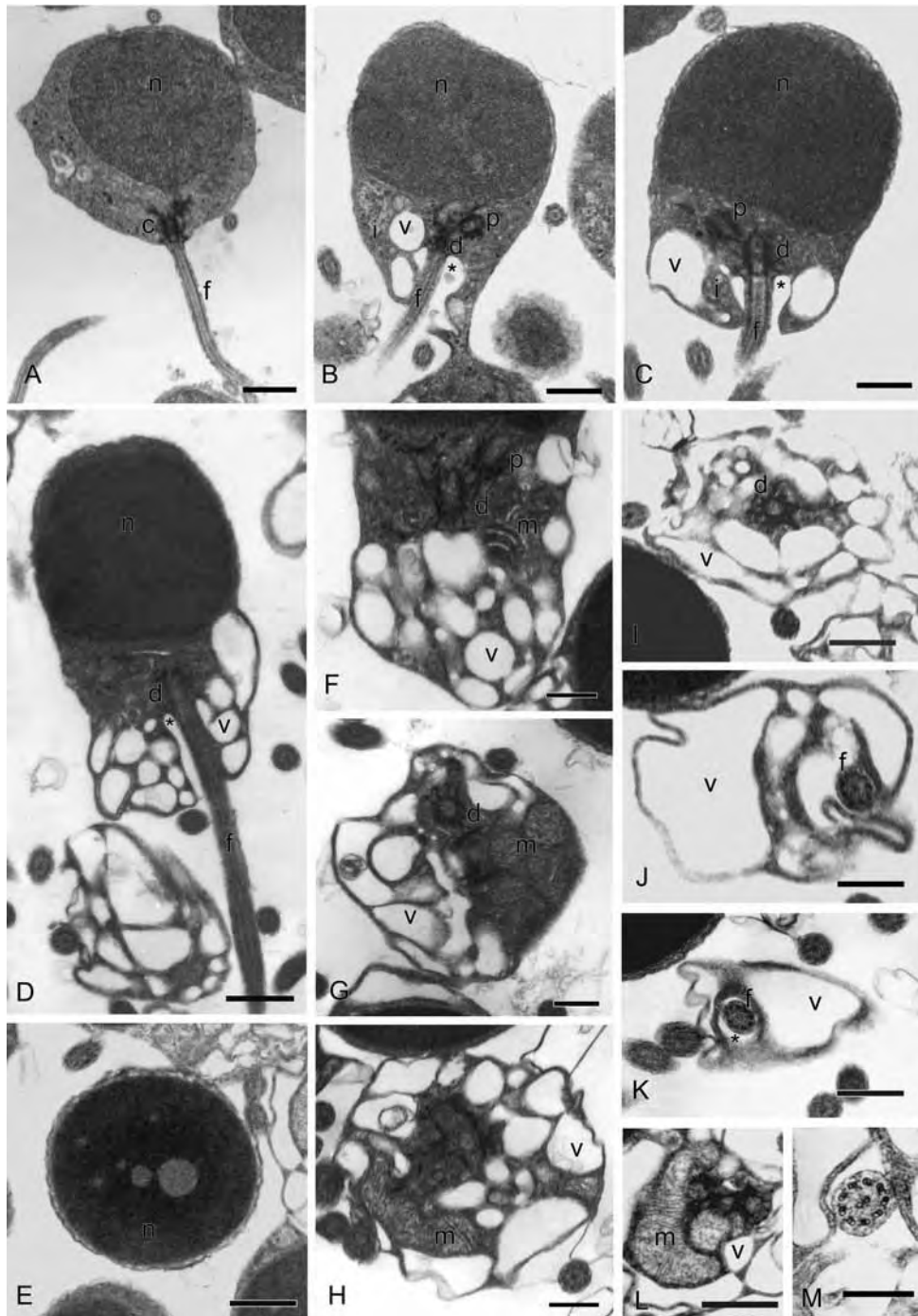
Figura 10



### Figura 11

Espermátides e espermatozóides de *Trachydoras paraguayensis*. **A:** Corte longitudinal de uma espermátide inicial com núcleo (n) contendo cromatina descondensada, o complexo centriolar (c) medial ao núcleo e ancorado na membrana plasmática. Note o flagelo (f) em desenvolvimento. barra= 1,0 $\mu$ m. **B-C:** Corte médio/sagital de espermátides com núcleo (n) contendo cromatina em condensação, complexo centriolar próximo ao núcleo, com centríolo proximal (p) anterior e oblíquo em relação ao distal (d). Note a formação de grandes vesículas (v) dilatadas que se projetam em direção ao flagelo (f) alongando a peça intermediária (i) e formando o canal citoplasmático (asterisco). **B:** barra= 0,7 $\mu$ m. **C:** barra= 0,6 $\mu$ m. **D:** Corte longitudinal de um espermatozóide. Note o núcleo (n) com cromatina altamente condensada, a ausência de fossa nuclear, a peça intermediária com a massa citoplasmática contendo as organelas concentradas no seu terço anterior, sendo os dois terços posteriores constituídos por amplas vesículas (v) entremeadas por estreitas faixas citoplasmáticas. O centríolo distal (d) ancorado na membrana plasmática do terço anterior da peça intermediária de onde parte o flagelo (f). Canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,6 $\mu$ m. **E:** Corte transversal do núcleo (n) com áreas elétron-lúcidas (seta) de diferentes dimensões dispersas na cromatina altamente condensada. barra= 0,6 $\mu$ m. **F:** Corte através da peça intermediária na região onde está localizado o complexo centriolar, envolto por material elétron denso, com o centríolo proximal (p) anterior e oblíquo em relação ao distal (d). Note as microfibrilas (cabeça de seta) conectando os centríolos entre si e ao envoltório nuclear. Vesículas (v). Mitocôndrias (m). barra= 0,3 $\mu$ m. **G,H:** Cortes transversal e oblíquo da peça intermediária na interface entre a massa citoplasmática e as vesículas (v). Note o centríolo distal (d) e as mitocôndrias alongadas (m). **G:** barra= 0,4 $\mu$ m. **H:** barra= 0,3 $\mu$ m. **I-K:** Cortes transversais em diferentes alturas dos terços distais da peça intermediária. Note as grandes vesículas (v) dilatadas, o centríolo distal e o flagelo (f). **I:** barra= 0,4 $\mu$ m. **J:** barra= 0,3 $\mu$ m. **K:** barra= 0,4 $\mu$ m. **L:** Detalhe da mitocôndria (m), bastante alongada. Vesículas (v). barra= 0,6 $\mu$ m. **M:** Detalhe flagelo contendo o axonema com o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos. barra= 0,6 $\mu$ m.

**Figura 11**

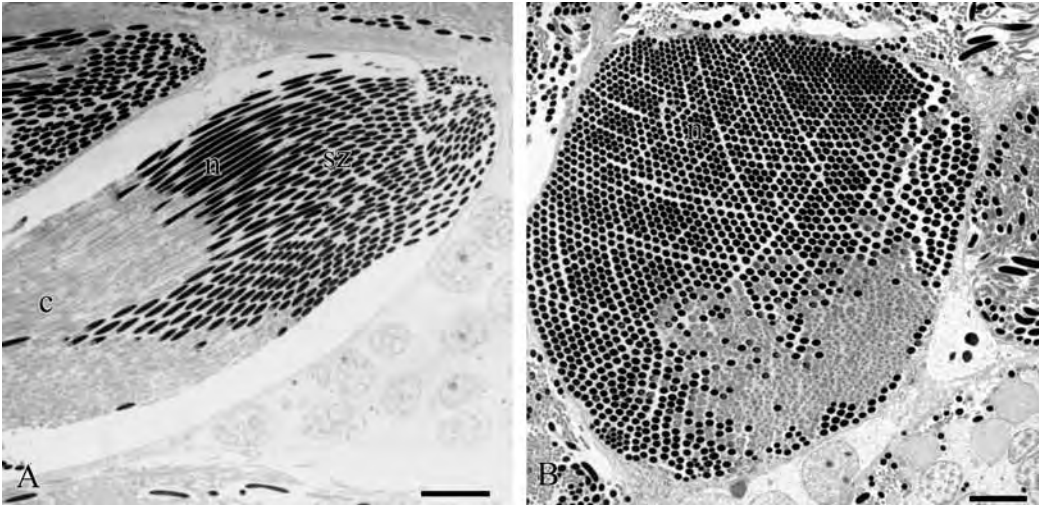


*Trachelyopterus striatulus* (Auchenipteridae)

**Figura 12**

**A-B:** Cortes da região espermatogênica do testículo de *Trachelyopterus striatulus* com cistos contendo espermatózeugmatas (sz). Note os núcleos (n) e caudas (c) dos espermatozóides alinhados no sentido longitudinal. **A:** barra= 5,5µm. **B:** barra= 4,1µm.

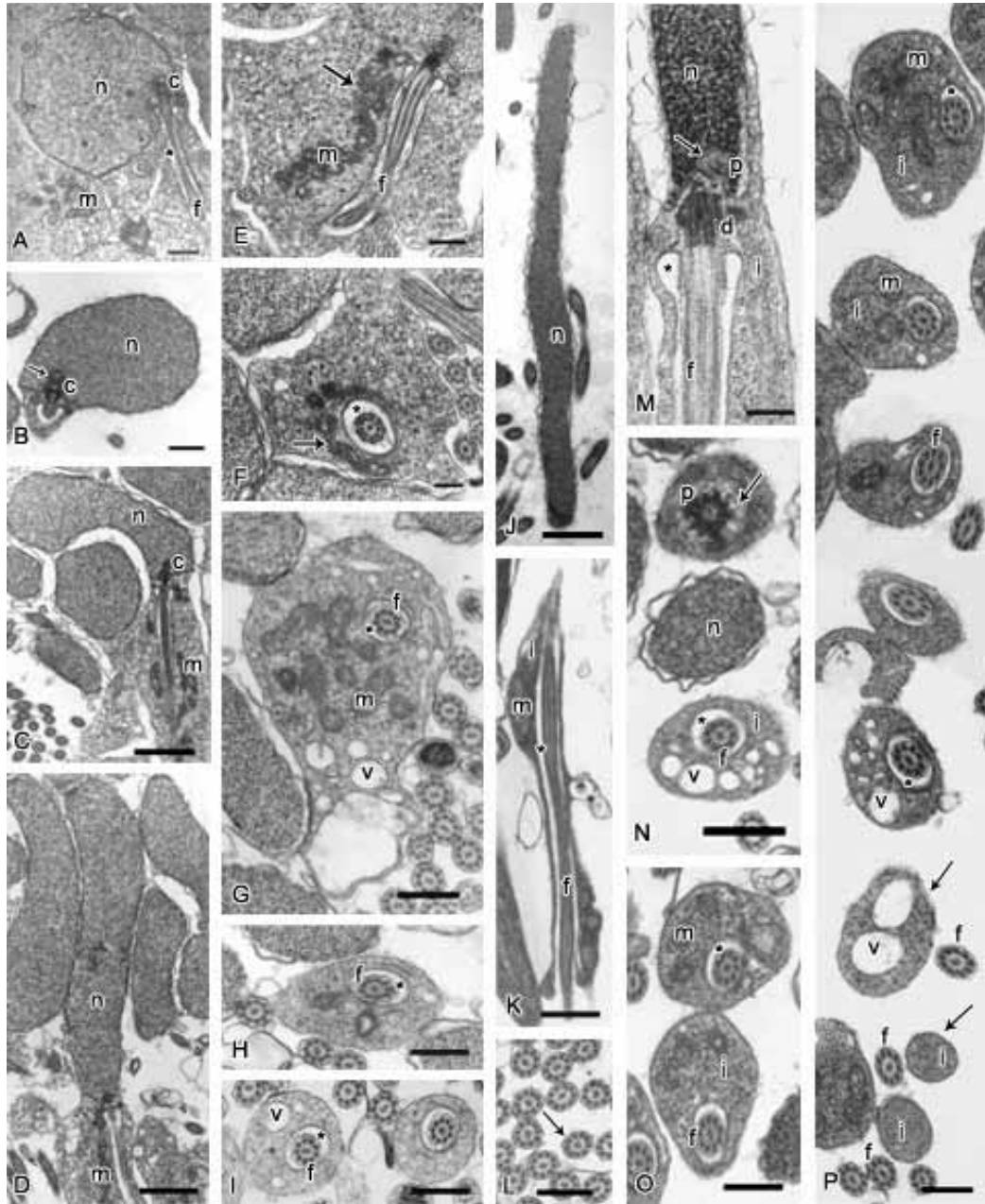
Figura 12



### Figura 13

Espermiogênese em *Trachelyopterus striatulus* **A-D**: Espermátides durante o processo de rotação e alongamento nuclear. Note como o complexo centriolar (c) e o flagelo (f), inicialmente laterais (**A**) ao núcleo (n), tornam-se progressivamente mediais, a formação do canal citoplasmático (asterisco) (**B-D**); a formação a fossa nuclear (seta) que abriga parte do complexo centriolar (c) e como o núcleo (n) em alongamento tem o contorno irregular. **A**: barra= 0,6µm. **B**: barra= 0,6µm. **C**: barra= 1,7µm. **D**: barra= 1,7µm. **E-I**: A formação da peça intermediária. A massa citoplasmática movimenta-se para a base do núcleo e também se alonga. Note as mitocôndrias (m) que em corte longitudinal (**E**) enfileiram-se (seta) ao lado do flagelo (f) e em corte transversal (**F**) estão dispostas em um círculo incompleto (seta) ao redor do canal citoplasmático (asterisco) que as separa do flagelo. A peça intermediária (**G-I**) torna-se progressivamente afilada na sua extremidade final, e é assimétrica devido à distribuição desigual das mitocôndrias. Vesículas (v). **E**: barra= 1,0µm. **F**: barra= 0,7µm. **G**: barra= 0,4µm. **H**: barra= 0,4µm. **I**: barra= 0,8µm. **J,K**: Cortes longitudinais de espermátides alongadas. Note o como o núcleo (n), com cromatina em condensação, e a peça intermediária (i) tornam-se afilados. Mitocôndrias (m); Flagelo (f); Canal citoplasmático (asterisco). **J**: barra= 0,6µm. **K**: barra= 0,6µm. **L**: Corte transversal do flagelo contendo o axonema (seta) com o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos. barra= 0,6µm. **M**: Detalhe em corte longitudinal na interface entre o núcleo (n) e a peça intermediária (i). Note a condensação da cromatina no núcleo (n), a fossa nuclear rasa (seta) abrigando o centríolo proximal (p) e parte do distal (d), o complexo centriolar envolto por material elétron-denso, a assimetria da peça intermediária, o flagelo (f) e o canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,8µm. **N,O**: Cortes transversais na interface entre o núcleo (n) e a peça intermediária (i) e da peça intermediária. Note a inserção do centríolo proximal (p) na fossa nuclear (seta). Flagelo (f); Mitocôndrias (m); Vesículas (v); Canal citoplasmático (asterisco). **N**: barra= 0,6µm. **O**: barra= 0,4µm. **P**: Fotomontagem de cortes semi-sequenciais da peça intermediária de espermátides alongadas. Note a assimetria da peça intermediária (i) com as mitocôndrias (m) concentradas em um dos lados, e como na extremidade o lado maior destaca-se formando uma espécie de cauda (seta) que acompanha o flagelo (f). Vesículas (v); Canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,4µm.

Figura 13

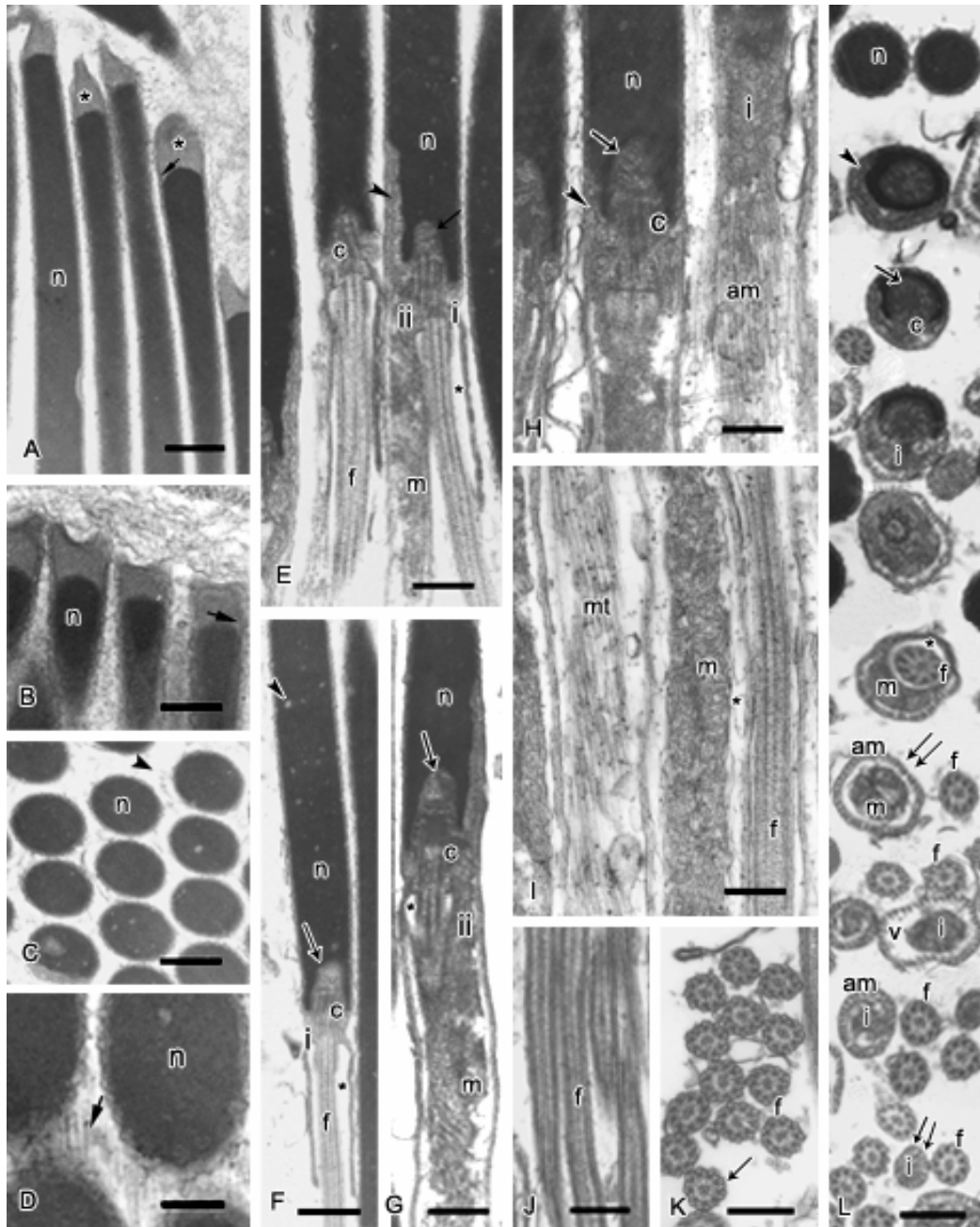


#### **Figura 14**

Espermatozóide de *Trachelyopterus striatulus*. **A-B**: Corte longitudinal da extremidade apical de núcleos de espermatozóides. Note os núcleos (n) afilados contendo uma área eletron-lúcida (asterisco), sem cromatina condensada, no topo. A membrana da área eletron-lúcida é contínua com o envoltório nuclear (seta). **A**: barra= 0,4µm. **B**: barra= 0,3µm. **C-D**: Cortes transversais de núcleos de espermatozóides. Note o seu contorno circular, as pequenas áreas elétron-lúcidas (cabeça de seta) dispersas entre a cromatina altamente condensada, e o material extracelular (seta) que promove a coesão dos espermatozóides organizados no espermatozeugmata. **C**: barra= 0,4µm. **D**: barra= 0,2µm. **E-G**: Cortes longitudinais na interface entre o núcleo (n) e a peça intermediária (i) e da região inicial da peça intermediária. Em **E**, numa visão lateral, note que a fossa nuclear (seta) é rasa e ligeiramente assimétrica, abriga o centríolo distal e a extremidade anterior do centríolo proximal (c) que se ancora na membrana plasmática. Note a assimetria da peça intermediária que é curta e estreita (i) em um dos lados e longa e larga (ii) no lado diametralmente oposto. Uma projeção de citoplasma circundado por microtúbulos (cabeça de seta) projeta-se em direção ao núcleo a partir da região em que a peça intermediária é mais ampla. Em **F**, numa visão frontal, note a região em que a peça intermediária (i) é mais curta e estreita. Em **G**, também em uma visão frontal, note a região da peça intermediária em que a peça intermediária (ii) é larga e ampla e na qual se concentram as mitocôndrias (m). Centríolos (c); Núcleo (n) com áreas elétron lúcidas dispersas na cromatina altamente condensada (cabeça de seta); Fossa nuclear (seta). **E**: barra= 0,3µm. **F**: barra= 0,4µm. **G**: barra= 0,3µm. **H**: Cortes longitudinais na interface entre o núcleo (n) e a peça intermediária (i). Note a projeção de citoplasma circundado por microtúbulos (cabeça de seta) que se projeta em direção ao núcleo a partir da região em que a peça intermediária é mais ampla. Centríolos (c); Fossa nuclear (seta). barra= 0,8µm. **I**: Corte longitudinais em diferentes profundidades da região mais larga da peça intermediária. Note, num corte superficial, a camada de microtúbulos (mt) que se projeta para o núcleo acompanha toda esta região da peça intermediária; num corte medial, as mitocôndrias (m) alongadas e contorcidas; e num corte mais profundo, o flagelo (f) no interior do canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,8µm. **J,K**: Cortes longitudinais e transversais do flagelo (f) contendo o axonema (seta) com o arranjo clássico de 9+2 microtúbulos. **J**: barra= 0,4µm. **K**: barra= 0,3µm. **L**: Fotomontagem de cortes semi-sequenciais na interface entre o núcleo (n) e a peça intermediária, e ao longo da peça intermediária. Note a camada de citoplasma (cabeça de seta) que se projeta para o núcleo e o circunda parcialmente; a fossa nuclear (seta) que abriga os centríolos (c) a assimetria da peça intermediária (i) com as mitocôndrias (m) concentradas em

um dos lados, e como na extremidade a região mais larga destaca-se formando uma espécie de cauda (seta dupla) que acompanha o flagelo (f). A camada superficial de microtúbulos acompanha toda extensão da peça intermediária na região em estão concentradas as mitocôndrias (m). Canal citoplasmático (asterisco). barra= 0,3 $\mu$ m.

Figura 14



***DISCUSSÃO***

---

## DISCUSSÃO

### A espermatogênese

A espermatogênese nos Teleostei pode transcorrer integralmente no interior dos cistos, no epitélio germinativo (GRIER, 1981) ou ser semi-cística. Na espermatogênese semi-cística (MATTEI, 1993), a proliferação das espermatogônias e a divisões meióticas ocorrem dentro de cistos no epitélio germinativo, enquanto a diferenciação das espermátides ocorre fora dos cistos, no compartimento luminal dos testículos. Embora a espermatogênese intracística seja uma característica da maioria dos Siluriformes, o desenvolvimento do tipo semi-cístico vem sendo detectado em um número cada vez maior de espécies. No Doradidae, da sub-família Astrodoradinae (*sensu*, HIGUCHI, 1992) *Anadoras weddellii*, e no Ariidae, *Genidens genidens* a espermatogênese é semi-cística. Entre os Siluriformes este tipo de espermatogênese encontra-se reportado também nas famílias Amblycipitidae (LEE e KIM, 1999), Aspredinidae e Cetopsidae (SPADELLA *et al.*, 2006), Malapteruridae (SHAHIN, 2006) e Nematogenidae (SPADELLA, 2007). Coincidentemente nas espécies, em que a espermatogênese é semi-cística, os centríolos são paralelos e desenvolvem cada um, um axonema. Em consequência, os espermatozóides são biflagelados exceto em *G. genidens* (este estudo). Apesar de Mattei (1991) ter considerado que os Ariidae também são biflagelados, em *G. genidens* os dois axonemas compartilham a mesma membrana flagelar e o flagelo é único. A presença de espermatogênese semi-cística e espermatozóides com dois axonemas, cinco deles biflagelado, em seis famílias de Siluriformes constitui um forte indício de que nesta ordem estes caracteres devem estar associados. Uma única ocorrência de espermatogênese semi-cística com produção de espermatozóides uniflagelados encontra-se registrada e refere-se à família Callycchthyidae, subfamília Coridoradinae (SPADELLA *et al.*, 2007). Nos Coridoradinae os centríolos têm um arranjo coaxial (SPADELLA *et al.*, 2007).

Nos demais Doradidae analisados, *Rhinodoras dorgibnyi*, *Pterodoras granulosus*, *Oxydoras kneri* e *Trachydoras paraguayensis*, todos pertencentes à subfamília Doradinae e também no Auchenipteridae, *Trachelyopterus striatulus*, a espermatogênese é cística.

### A espermiogênese

A espermiogênese nos Siluriformes parece ser do Tipo I, ou do Tipo III, ou variações destes. Até o momento não existe relato da ocorrência de espermiogênese do Tipo II nesta Ordem. Na espermiogênese do tipo I (MATTEI, 1991) os centríolos inicialmente em posição

lateral migram em direção ao núcleo. Como estão ancorados na membrana plasmática ao migrarem trazem consigo a membrana formando uma invaginação que dá origem ao canal citoplasmático. O flagelo em desenvolvimento, a partir do centríolo distal, instala-se, portanto no interior do canal recém formado. O núcleo sofre uma rotação de 90 graus em relação ao eixo flagelar e o flagelo de lateral passa a uma posição medial ao núcleo. Na região do núcleo voltada para os centríolos forma-se uma depressão, a fossa nuclear, que passa a abrigar os centríolos ou parte deles. Na espermiogênese do tipo III (QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2005; QUAGIO-GRASSIOTTO e OLIVEIRA, 2008) os centríolos já desde o início têm uma posição medial ao núcleo, a migração não ocorre e tampouco a rotação nuclear. Nesta última, a formação do canal citoplasmático quando ocorre, deve-se ao deslocamento da massa citoplasmática da peça intermediária em direção ao flagelo, ou a acomodação e/ou fusão de vesículas aí existentes. Variações deste tipo de espermiogênese ocorrem, por exemplo, em Callichthyidae, na subfamília Coridoradinae (SPADELLA *et al.*, 2007). Nos Coridoradinae o complexo centriolar ancorado na membrana plasmática é fortemente excêntrico ao núcleo, conseqüentemente o flagelo em desenvolvimento é também excêntrico. Os centríolos não migram e a rotação nuclear não ocorre e apesar de uma fossa nuclear rasa formar-se no contorno nuclear na região voltada para os centríolos, esses permanecem fora dela.

Considerando as espécies aqui analisadas, a espermiogênese do tipo I ocorre nos Doradidae da subfamília Doradinae à exceção de *Trachydoras paraguayensis* cuja espermiogênese é do tipo III. Em Auchenipteridae a espermiogênese é também do tipo I. Nos Doradinae, com espermiogênese do Tipo I, apesar da migração dos centríolos não ocorrer, a rotação nuclear é completa, e a formação do canal citoplasmático deve-se à movimentação da massa citoplasmática em direção ao flagelo.

As espécies com dois axonemas, analisadas nesse estudo, apresentam padrões de espermiogênese distintos em relação à posição inicial dos centríolos. No Doradidae da subfamília Astrodoradinae, os centríolos têm desde o início uma posição medial em relação ao núcleo e a espermiogênese pode ser classificada como do tipo III. Já no Ariidae, *G. genidens*, a posição inicial do flagelo, lateral em relação ao núcleo, a presença de rotação nuclear, a existência da fossa nuclear a aproximam da espermiogênese do tipo I. Porém os centríolos não se ancoram à membrana plasmática e tampouco migram em direção ao núcleo, o que justifica a não formação do canal citoplasmático.

Os diferentes tipos de espermiogênese, sejam eles do Tipo I e II (MATTEI, 1991) ou do Tipo III (QUAGIO-GRASSIOTTO e OLIVEIRA, 2008) caracterizam situações extremas. Como apontado por Mattei (1991), variações nesses processos podem conduzir à formação de

espermatozóides de tipos intermediários no que diz respeito à posição do flagelo em relação ao núcleo.

## **Os espermatozóides**

### **DORADIDAE**

Nas espécies de Doradidae aqui analisadas, os espermatozóides podem ser separados em três unidades distintas, conforme o padrão ultraestrutural que apresentam. Estas unidades refletem, também, os diferentes tipos de espermiogênese que lhes deram origem: uma com *Anadoras weddellii*; outra com *Rhinodoras dorgibnyi*, *Pterodoras granulosus* e *Oxydoras kneri*; e uma última com *Trachydoras paraguayensis*. Segundo Higuchi (1992), *A. weddellii* pertence à subfamília Astrodoradinae, enquanto as demais espécies estão alocadas na subfamília Doradinae. Quando analisados em seu conjunto, os espermatozóides dos Doradidae, compartilham efetivamente apenas o padrão homogêneo de condensação da cromatina e a ausência das projeções laterais da membrana flagelar. Por sua vez, o espermatozóide de *A. weddellii* difere dos demais na forma do núcleo, na fossa nuclear, posição dos centríolos no complexo centriolar, na peça intermediária além de ser biflagelado enquanto as demais espécies possuem um único flagelo. No grupo formado por *R. dorgibnyi*, *P. granulosus* e *O. kneri*, os espermatozóides compartilham das mesmas características gerais, com variações que dizem respeito principalmente à peça intermediária, em especial no número e forma das mitocôndrias e das vesículas, e no tamanho da peça em si. Por outro lado, *T. paraguayensis* difere dos demais na ausência da fossa nuclear, posição dos centríolos no complexo centriolar, tipo de vesículas presentes na peça intermediária e na formação do canal citoplasmático.

Apesar do conflito existente entre as proposta de relacionamentos dentro de Doradidae que têm como base dados morfológicos (HIGUCHI, 1992) e aquela com base em dados moleculares (MOYER *et al.*, 2004), é a proposta de Higuchi (1992) que melhor suporta os dados da ultraestrutura das células espermáticas nessa família. A proposta de Higuchi (1992) separa os Doradidae em dois gêneros basais (*Wertheimeria* e *Franciscodoras*) e um grupo de três subfamílias (Platydoradinae, Astrodoradinae e Doradinae). O único grupo em Doradidae recuperado na análise de Moyer e colaboradores (2004) é Astrodoradinae. Considerando que os padrões espermáticos tendem a ser constantes dentro das famílias (BACCETTI *et al.*, 1984; QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2003; SPADELLA 2007; QUAGIO-GRASSIOTTO e OLIVEIRA, 2008) ou subfamílias (SPADELLA *et al.*, 2007), os tipos de espermatogênese, espermiogênese e as diferenças ultraestruturais entre os espermatozóides em Doradidae

correspondem aos grupos infragenéricos dentro da família, conforme proposto por Higuchi (1992). Assim no Astrodoradinae, *A. weddellii*, a espermatogênese é semi-cística, a espermiogênese é do tipo I e o espermatozóide, entre outras características é biflagelado. Nos Doradinae a espermatogênese é cística, e no grupo formado por *R. dorgibnyi*, *P. granulatus* e *O. kneri*, a espermiogênese é do tipo I e o espermatozóide possui um único flagelo. Já em *T. paraguayensis*, também Doradinae, e também uniflagelado, a espermiogênese é do tipo III. Em Doradinae o grupo formado por *R. dorgibnyi*, *P. granulatus* e *O. kneri*, possui barbilhão maxilar simples enquanto em *T. paraguayensis* é ramificado. Esta característica morfológica que separa os Doradidae em dois grandes grupos (SABAJ e FERRARIS, 2003), quando considerados somente os Doradinae, encontra correspondência nos diferentes tipos de espermiogênese e também nas diferenças ultraestruturais dos espermatozóides dos representantes do grupo aqui analisados. Além disso, entre os Doradidae com barbilhão maxilar simples as diferenças na espermatogênese, espermiogênese e na ultraestrutura dos espermatozóides refletem o não monofiletismo do grupo (HIGUCHI, 1992).

#### **DORADIDAE VERSUS AUCHENIPTERIDAE**

Os Auchenipteridae tem sido reconhecidos e confirmados como grupo irmão dos Doradidae por diferentes autores (de PINNA, 1998; SULLIVAN *et al.*, 2006). Juntos Doradidae e Auchenipteridae constituem a superfamília Doradoidea. Os Auchenipteridae são inseminadores (MEISNER *et al.*, 2000) e possuem o espermatozóide altamente modificado em decorrência da tática reprodutiva da espécie. As descrições existentes dos espermatozóides dessa família referem-se exclusivamente ao gênero *Trachelyopterus* (BURNS *et al.*, 2002; PARREIRA e GODINHO, 2004, este estudo). Os espermatozóides nas três espécies analisadas, *T. lucenai* (BURNS *et al.*, 2002), *T. galeatus* (PARREIRA e GODINHO, 2004) e *T. striatulus* (aqui descrito) são muito semelhantes entre si e possuem núcleo longo e afilado e a peça intermediária com características bastante peculiares. Como grupo irmão dos Doradidae, os Auchenipteridae, compartilham com estes o padrão homogêneo e altamente condensado da cromatina, e a ausência de projeções laterais na membrana flagelar. Considerados apenas os Doradinae, compartilham também a presença de um único flagelo. Excluído *T. paraguayensis*, que possui barbilhão maxilar ramificado, compartilham com os demais Doradinae a espermiogênese do tipo I.

#### **DORADOIDEA VERSUS ASPREDINIDAE**

Conforme proposto por Friel (1994), Sullivan e colaboradores (2006) reconhecem Aspredinidae como grupo irmão de Doradoidea (Doradidae + Auchenipteridae). O espermatozóide do Aspredinidae, *Bunocephalus amazonicus* (SPADELLA *et al.*, 2006) é muito similar ao espermatozóide do Doradidae, *A. weddellii*, membro da subfamília Astrodoradinae. Exceto pelo padrão de condensação da cromatina em flocos em *B. amazonicus* e homogeneamente condensada em *A. weddellii*, as demais características espermáticas são muito semelhantes nessas duas espécies. As diferenças existentes não considerando as mitocôndrias com formato oval (*A. weddellii*) ou alongado (*B. amazonicus*), dizem respeito principalmente a variações nas dimensões das estruturas como o núcleo ligeiramente mais alongado de *A. weddellii* do que em *B. amazonicus*. Além das características dos espermatozoides *A. weddellii* e *B. amazonicus* compartilham o mesmo tipo de espermatogênese e espermiogênese. As semelhanças no tipo de espermatogênese, espermiogênese e entre os espermatozoides de representantes dessas duas famílias suportam a posição de Aspredinidae como grupo irmão de Doradoidea e apontam para uma posição basal para os Astrodoradinae, dentro de Doradidae.

#### **DORADIDAE VERSUS ARIIDAE**

A proposição de Ariidae como um grupo monofilético junto com os Doradoidei (ROYERO, 1987; MO, 1991; LUNDEBERG, 1993), com base na presença do complexo produtor de som, ainda que carente de confirmação (de PINNA, 1998) quando confrontada com os dados da ultraestrutura das células espermáticas é intrigante. Comparado os espermatozoides dos Doradidae e do Ariidae, *Genidens genidens*, numa primeira instância, estes compartilham apenas o padrão homogêneo de compactação da cromatina e a ausência de projeções laterais da membrana flagelar. Porém se analisado isoladamente o espermatozóide do Astrodoradinae *A. weddellii* versus *G. genidens*, tem-se que ambos apresentam dois axonemas e além de que em ambas as espécies a espermatogênese é semicística. Apesar das demais características desses dois espermatozoides serem bastante distintas, o fato dessas espécies compartilharem o mesmo tipo de espermatogênese, semi-cística, é um forte indício da existência de algum nível de relacionamento entre elas.

---

**CONCLUSÕES**

## CONCLUSÕES

A análise comparativa dos dados obtidos mostra que:

-Os tipos de espermatogênese, espermiogênese e as diferenças ultraestruturais existentes entre os espermatozóides em Doradidae correspondem aos diferentes grupos intra-genéricos dentro da família, conforme propostos por Higuchi (1992) e diferente do obtido por Moyer e colaboradores (2004).

-A separação dos Doradidae em dois grandes grupos (SABAJ e FERRARIS, 2003), conforme apresentem o barbilhão maxilar simples ou ramificado, quando considerados apenas os Doradinae, encontra correspondência não só nos diferentes tipos de espermiogênese, mas também na morfologia dos espermatozóides. Também entre os Doradidae com barbilhão maxilar simples as diferenças na espermatogênese, espermiogênese e na ultraestrutura dos espermatozóides refletem o não monofiletismo do grupo (HIGUCHI, 1992).

-Quando comparados os diferentes tipos de espermatogênese, espermiogênese e de espermatozóides dos Doradidae, com aqueles do seu grupo irmão, Auchenipteridae, estes compartilham algumas poucas características. As características compartilhadas são aquelas da espermiogênese e alguns poucos aspectos da ultraestrutura dos espermatozóides dos Doradinae de barbilhão maxilar simples. O fato dos Auchenipteridae serem inseminadores e apresentarem espermatozóides altamente modificados dificulta este tipo de comparação.

-Quando comparados os diferentes tipos de espermatogênese, espermiogênese e de espermatozóides dos Doradoidea (Doradidae + Auchenipteridae) com aqueles do seu grupo irmão, Aspredinidae, estes compartilham várias características, principalmente o tipo de espermatogênese e espermiogênese e a ultraestrutura dos espermatozóides dos Astrodoradinae. As semelhanças existentes suportam a posição de Aspredinidae como grupo irmão de Doradoidea e apontam para uma posição basal para os Astrodoradinae, dentro de Doradidae.

-Quando comparados os diferentes tipos de espermatogênese, espermiogênese e de espermatozóides dos Doradoidea (Doradidae + Auchenipteridae) com aqueles dos Ariidae, estes, apesar de compartilham poucas características, chamam a atenção. As características compartilhadas referem-se ao tipo de espermatogênese e o número de axonemas dos espermatozóides dos espermatozóides dos Astrodoradinae, um forte indício da existência de algum nível de relacionamento entre os Doradidae e os Ariidae.

---

***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***  
**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALEXANDER, R.M. Structure and function in catfish. **Journal of Zoology**, v.148, p.88-152, 1965.
- AMANZE, D. e IYENGAR, A. The micropyle: a sperm guidance system in teleost fertilization. **Development**, v.109, p.495-500, 1990.
- BACCETTI, B., BURRINI, A.G., CALLAINI, G., GILBERTINI, G., MAZZINI, M. e ZERUNIAN, S. Fish germinal cells. I. Comparative spermatology of seven cyprinid species. **Gamete Research**, v.10, p.373-396, 1984.
- BRITSKI, H. Sistemática e evolução dos Auchenipteridae e Ageneiosidae (Teleostei, Siluriformes). 1972. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BRITTO, M.R. Análise filogenética da ordem Siluriformes com ênfase na superfamília Loricarioidea (Teleostei, Ostariophysi). 2003. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo. São Paulo.
- BURNS, J.R., MEISNER A.D., WEITZMAN, S.H. e MALABARBA, L.R. Sperm and spermatozeugma ultrastructure in the inseminating catfish, *Trachelyopterus lucenai* (Ostariophysi: Siluriformes, Auchenipteridae). **Copeia**, v.1, p.173-179, 2002.
- BURNS, J.R. e WEITZMAN, S.H. Insemination in ostariophysan fishes. In: URIBE, M.C., GRIER, H.J. (Eds) **Viviparous Fishes**. Mexico: FOC, SA de CV. 2005. p.107-134.
- CRUZ, R.J.G. e SANTOS, J.E. Testicular structure of three species of neotropical freshwater pimelodids (Pisces, Pimelodidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.21, p.267-271, 2004.
- CURRAN, D.J. Phylogenetic relationships among the catfish genera of the family Auchenipteridae (Teleostei: Siluroidea). **Copeia**, v.2, p.408-419, 1989.
- EIGENMANN, C. H. A review of the Doradidae, a family of South of American Nematognathi, or catfishes. **Transactions of the American Philosophy Society**, new series, v.22, p.280-365, 1925.
- EMEL'YANOVA, N.G. e MAKEYEVA, A.P. Morphology of the gametes of the channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Journal of Ichthyology**, v.31, p.143-148, 1991.
- EMEL'YANOVA, N.G. e MAKEYEVA, A.P. Ultrastructure of spermatozooids of some representative catfishes. **Journal of Ichthyology**, v.32, p.127-134, 1992.

- FERNÁNDEZ-YÉPEZ, A. Contribucion al conocimiento de la familia Doradidae en Venezuela. Cumana, **Boletino del Instituto Oceanografico, Universidad de Oriente**, v.7, p.7-72, 1968.
- FERRARIS, C. J. Catfishes and knifefishes. In: PAXTON, J.R., ESCHMEYER, W.N. (Eds) **Encyclopedia of fishes**. San Diego: Academic Press. 1998. p.106-112.
- FERRARIS, C. J. Family Loricariidae: subfamily Neoplecostominae (armored catfishes). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. (Eds.) *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Poto Alegre: Edipucrs, 2003. p. 319-320.
- FINK, S.V. e FINK, W.L. Interrelationships of the ostariophysan fishes (Teleostei). **Zoological Journal of the Linnean Society London**, v.72, p.297-353. 1981.
- FRANZÈN, Å. Phylogenetic aspects of the morphology of spermatozoa and spermiogenesis. In: BACCETTI, B. (Ed) **Comparative Spermatology**, New York: Academic Press. 1970. p. 29-45.
- FRIEL, J.P. A phylogenetic study of the Neotropical banjo catfishes (Teleostei: Siluriformes: Aspredinidae). 1994. PhD. Theses, Duke University, Durham.
- FUTUYMA, D. J. **Biologia Evolutiva**. 2ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética-CNPq, 1, 1992. 631p.
- GRIER, H. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **American Zoologist**, v.21, p.345-357, 1981.
- GRIER, H.J. Chordate testis: The Extracellular Matrix Hypothesis. **Journal of Experimental Zoology**, v.261, p.151-162, 1992.
- GRIER, H. J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. Ln: Russel, L.D. e Griswold, M.D. (Eds) **The Sertoli Cell**. Clearwater, FL: Cache River Press, 1993. p.704-730.
- HIGUCHI, H. A phylogeny of South American thorny catfishes (Osteichthyes; Siluriformes, Doradidae). 1992. PhD. Dissertation. Harvard University, Cambridge.
- HENNIG, W. **Phylogenetics Systematics**. Illinois: University of Illionois Press, 1966. 263p.
- JAMIESON, B.G.M. **Fish Evolution and Systematics: evidence from spermatozoa**. Cambridge: Cambridge University Press. 1991. 319p.

- JASPER, E. J., AVAULT, J. W. J. e ROUSSEL, J. D. Spermatozoal morphology and ultrastructure of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.105, p.475-480, 1976.
- Kim K.H. e Lee, Y.H. The ultrastructure of spermatozoa of the ussurian bulhead, *Leiocassis ussuriensis* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae) with phylogenetic considerations. **Korean Journal of Limnology**, v.33, p.405-412, 2000.
- KWON, A.S., KIM K.H. e LEE, Y.H. Ultrastructure of spermatozoa in the catfish *Silurus asotus*. **Development and Reproduction**, v.2, p.75-80, 1998.
- LEE Y.H. The ultrastructure of spermatozoa in the bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae). **Korean Journal of Electron Microscopy**, v.28, p.39-48, 1998.
- LEE, Y.H. e KIM, K.H. Ultrastructure of the south torrent catfish, *Liobagrus mediadiposalis* (Teleostei, Siluriformes, Amblicipitidae) spermatozoon. **Korean Journal of Limnology**, v.32 p.271-280, 1999.
- LEE Y.H. e KIM K.H. The ultrastructure of spermatozoa in the slender catfish *Silurus microdorsalis* (Teleostei, Siluriformes, Siluridae) with phylogenetic considerations. **Journal of Submicroscopy Cytology and Pathology**, v.33, p.329-336, 2001.
- LOIR, M., CAUTY, C., PLANQUETTE, P. e LE BAIL, P.Y. Comparative study of the male reproductive tract in seven families of South-American catfishes. **Aquatic Living Resources**, v.2, p.45-56, 1989.
- LOPES, D.C.J.R., BAZZOLI, N., BRITO, M.F.G. e MARIA, T.A. Male reproductive system in the South American catfish *Conorhynchus conirostris*. **Journal of Fish Biology**, v.64, p.1419-1424, 2004.
- LUNDBERG, J. G. African-South American freshwater fish clades and continental drift: problems with a paradigm. In: GOLDBLAT, P. (Ed) **Biological Relationships between Africa and South America**. New Haven: Yale University Press. 1993. p. 156-199.
- MALABARBA, L.R., REIS, R.E., VARI, R.P., LUCENA, Z.M.S. e LUCENA, C.A.S. **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: Edipucrs. 1998. 603p.

- MANSOUR N., LAHNSTEINER F. e PATZNER, C.A. The spermatozoon of the African catfish: fine structure, mobility, viability and behavior in seminal vesicle secretion. **Journal of Fish Biology**, v.60, p.545-560, 2002.
- MANSOUR N. e LAHNSTEINER F. Morphology of the male genitalia and sperm fine structure in siluroid fish. **Journal of Submicroscopy Cytology and Pathology**, v.35, p.277-285, 2003.
- MATTEI, X. Spermiogenése comparé des poisson. In: BACCETTI, B. (Ed) **Comparative Spermatology**. Academic Press, New York, 1970. p. 57-72.
- MATTEI, X. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. **Canadian Journal of Zoology**, v.69, p.3038-3055, 1991.
- MATTEI, X. Peculiarities in the organization of testis of *Ophidion* sp. (Pisces: Teleostei). Evidence for two types of spermatogenesis in teleosts fish. **Journal of Fish Biology**, v.43, p.931-937, 1993.
- MEISNER, A.D., BURNS, J.R., WEITZMAN, S.H. e MALABARBA, L.R. Morphology and histology of the male reproductive system in two species of internally inseminating South American catfishes, *Trachelyopterus lucenai* and *T. galeatus* (Teleostei: Auchenipteridae). **Journal of Morphology**, v.246, p.131-141, 2000.
- MO, T. Anatomy, relationships and systematics of the Bagridae (Teleostei:Siluroidei) - with a hypotheses of siluroidei phylogeny. 1991. Theses Zoologicae **17**. Koeltz Scientific Books, Königstein.
- MOYER, G.R., BURR, B.M. e KRAJEWSKI, C. Phylogenetic relationships of thorny catfishes (Siluriformes: Doradidae) inferred from molecular and morphological data. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v.140, p.551-575, 2004.
- NATH, A. e. CHAND, B. Ultrastructure of spermatozoa correlated with phylogenetic relationship between *Heteropneustes fossilis* and *Rana Tigrina*. **Cytobios**, v.95, p.161-165, 1998.
- NELSON, J.S. **Fishes of the World**. 4<sup>th</sup> ed., New Jersey: John Wiley e Sons. 2006. 601p.
- PARENTI, L.R. e GRIER, H.J. Evolution and Phylogeny of Gonad Morphology in Bony Fishes. **Integrative and Comparative Biology**, v.44, p.333-348, 2004.

- PARREIRA, G. G. e GODINHO, H. P. Sperm ultrastructure of the cangati *Trachelyopterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes, Auchenipteridae), an internal fertilizer fish. **Molecular Biology of the Cell** v.15, 91A (supplement), 2004.
- PAXTON, J.R. e ESCHMEYER, W.N. **Encyclopedia of Fishes**. 2ª ed., San Diego: Academic Press. 1998. 240p.
- de PINNA, M.C. Phylogenetic relationships of Neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. In: MALABARBA, L.R., REIS, R.E., VARI, R. P., LUCENA, Z. M. S. e LUCENA, C. A. S. (Eds) **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: Edipucrs. 1998. 603p.
- POIRIER, G.R. e NICHOLSON, N. Fine structure of the testicular spermatozoa from the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal of Ultrastructural Research**, v.80, p.104-110, 1982.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I. e CARVALHO, E. D. Ultrastructure of *Sorubim lima* (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae) spermiogenesis. **Journal of Submicroscopy Cytology and Pathology**, v.32, p.654-659, 2000.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I., OLIVEIRA, C. e GOSZTONYI, A.E. The ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa in *Diplomystes mesembrinus*. **Journal of Fish Biology**, v.58, p.1623-1632, 2001.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Ultraestrutura do espermatozóide de *Anadoras sp.* (Teleostei, Siluriformes Doradidae). In: *XI Congresso Brasileiro de Biologia Celular*, 2002, Porto Alegre, RS. *Anais do XI Congresso Brasileiro de Biologia Celular*. p.33-33.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I., GAMEIRO, M.C., SCHNEIDER, T., MALABARBA, L.R. e OLIVEIRA, C. Spermiogenesis and spermatozoa ultrastructure in five species of curimatidae with some considerations on Characiformes spermatozoal ultrastructure. **Neotropical Ichthyology**, v.1, p.35-45, 2003.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I., SPADELLA, M.A., CARVALHO, M. e OLIVEIRA, C. Comparative description and discussion of spermiogenesis and spermatozoal ultrastructure in some species of Heptapteridae and Pseudopimelodidae (Teleostei, Siluriformes). **Neotropical Ichthyology**, v.3, p.401-410, 2005.

- QUAGIO-GRASSIOTTO, I. e OLIVEIRA, C. Sperm ultrastructure and a new type of spermiogenesis in two species of Pimelodidae, with a comparative review on sperm ultrastructure in Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi). **Zoologischer Anzeiger**, v.247, p.55-66, 2008.
- REIS, R.E., KULLANDER, S.O. e FERRARIS, C. (Eds.). **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America (CLOFFSCA)**. Porto Alegre: Edipucrs, 2003. 742p.
- ROYERO, R. Morfologia de la aleta dorsal en los bagres (Teleoste: Siluriformes), con especial referencia a las familias americanas. 1987. MS Dissertation, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Caracas.
- ROYERO, R. Studies on the systematic and the phylogeny of the catfish family Auchenipteridae (TELEOSTEI: Siluriformes). 1999. DPhil thesis. University of Bristol.
- SABAJ, M.H. e FERRARIS, C.J.JR. Family Doradidae (Thorny catfishes). In: Reis, R.E., Kullander, S.O., Ferraris, Jr C.J. (orgs). **Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America (CLOFFSCA)**. Porto Alegre: Edipucrs, 2003. p.456-469.
- SABAJ, M. R. Taxonomic assessment of *Leptodoras* (Siluriformes: Doradidae) with descriptions of three new species. **Neotropical Ichthyology**, v.4, p.637-678, 2005.
- SANTOS, J.E., BAZZOLI, N., RIZZO, E. e SANTOS G.B. Morphofunctional organization of the male reproductive system of the catfish *Iheringichthys labrosus* (Lutken, 1874) (Siluriformes: Pimelodidae). **Tissue and Cell**, v.33, p.533-540, 2001.
- SANTOS, J.E., BAZZOLI, N., RIZZO, E. e SANTOS G.B. Reproduction of the catfish *Iheringichthys labrosus* (Lütken) (Pisces, Siluriformes) in Furnas reservoir, Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.21, p.193-200, 2004.
- SAVAGE, J. M. Systematic and the biodiversity crisis. **BioScience**, v.45, p.673-679, 1995.
- SOUZA, L. M. e PY-DANIEL, L. H. R. Description of two new species of *Physopyxis* and redescription of *P. lyra* (Siluriformes: Doradidae). **Neotropical Ichthyology**, v.4, p.625-636, 2005.
- SHAHIN, A.A.B. Semicystic spermatogenesis and biflagellate spermatozoou ultrastructure in the Nile electric catfish *Malapterurus electricus* (Teleostei: Siluriformes: Malapteruridae). **Acta Zoologica**, v.87, p.215-227, 2006.

- SPADELLA, M. A. Estudos filogenéticos na superfamília Loricarioidea (Teleostei, Siluriformes) com base na ultraestrutura dos espermatozóides. 2004. Tese de Mestrado. Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas. Campinas.
- SPADELLA, M.A., OLIVEIRA, C. e QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Occurrence of biflagellate spermatozoa in Cetopsidae, Aspredinidae, and Nematogenidae (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes). **Zoomorphology**, v.125, p.135-145, 2006.
- SPADELLA, M. A. Estudos filogenéticos na Superfamília Loricarioidea (Teleostei, Siluriformes) com base na ultraestrutura dos espermatozóides. 2007. Tese (Doutorado). Instituto de Biologia. Universidade estadual de Campinas. Campinas.
- SPADELLA, M. A., OLIVEIRA, C. e QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Comparative analysis of spermiogenesis and ultrastructure in Callichthyidae (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes). **Neotropical Ichthyology**, v.5, p.337-350, 2007.
- SULLIVAN, J. P., LUNDBERG, J. G. e HARDMAN, M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using *rag1* and *rag2* nuclear gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.41, p.636-662, 2006.
- TEUGELS, G.G. Taxonomy, phylogeny and biogeography of catfishes (Ostariophysi, Siluroidei); an overview. **Aquatic Living Resources**, v.9, p.9-34, 1996.