

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

• Doroty Mesquita Dourado

**ESTUDO HISTOLÓGICO, HISTOQUÍMICO,  
MORFOMÉTRICO E ULTRA-ESTRUTURAL DA  
PELE DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES TELEÓSTEOS**

|                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato(a)<br><i>Doroty Mesquita Dourado</i><br>e aprovada pela Comissão Julgadora<br><i>17/12/99 Iara Maria Silva De Luca</i> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Tese apresentada ao Instituto de  
Biologia para obtenção do Título de  
Mestre em Biologia Celular e  
Estrutural na área de Histologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iara Maria Silva De Luca

QUE PC  
HAMADA: unicamp  
749  
Ex. 41579  
60 BC/ 278/00  
☐ ☒ ☒  
C8 0511,00  
A 14-02-00  
CPD

CM-00142227-6

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

**Dourado, Doroty Mesquita**

**D749e** Estudo histológico, histoquímico, morfométrico e ultra-estrutural  
da pele de duas espécies de peixes teleósteos /Doroty Mesquita Dourado.  
-- Campinas, SP: [s.n.] 1999.  
102f: ilus.

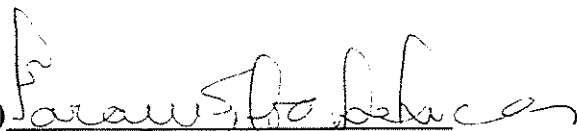
Orientadora: Iara Maria Silva De Luca  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas,  
Instituto de Biologia.

1.Histoquímica. 2.Teleósteos. 3.Pele. I. De Luca, Iara Maria Silva.  
II.Universidade Estadual de Campinas.Instituto de Biologia. III. Título.

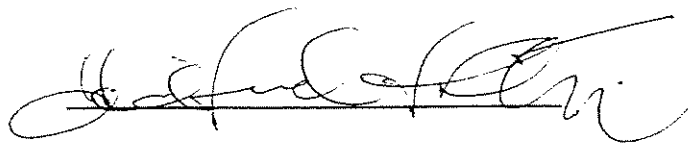
**Data da defesa: 17/12/99**

**Banca Examinadora**

**Profa. Dra. Iara Maria Silva De Luca (Orientadora)**



**Profa. Dra. Heidi Sueli Leme dos Santos**



**Profa. Dra. Maria Julia Marques**

---

**Suplente**

**Profa. Dra. Mary Anne Heidi Dolder**



## **Agradecimentos especiais**

Ao meu marido, incentivador maior da minha carreira.

Aos meus filhos, André Luiz, Priscila, Luciano e Tatiana, incentivos constantes da minha vida.

Aos meus pais, principalmente à mãe Celina e tia Noca, obrigado por acreditarem em mim.

## **Reconhecimento**

À profa. Dra. Iara Maria Silva De Luca, pela orientação segura e convivência harmoniosa no decorrer do curso de Mestrado e, também, principalmente pela confiança em mim depositada.

## AGRADECIMENTOS

Aos membros da Pré-banca: Profa. Dra. Heidi Sueli Leme dos Santos, profa. Dra. Maria Julia Marques e Profa. Mary Anne Heidi Dolder pelas sugestões, críticas e correções valiosas para a finalização da tese.

Aos professores do curso de pós-graduação, principalmente, àqueles do Departamento de Histologia e Embriologia, pela convivência e incentivo nesses três anos.

À Profa. Maria Alice Höffling pelo seu sorriso constante de bem estar com a vida.

Aos meus irmãos pela confiança e incentivo constante.

À Profa. Dra. Sueli, minha eterna professora, pelo estímulo à minha carreira de docente, pesquisadora e acima de tudo pela sua amizade.

À Profa. Maria Luiza R. de Souza pela colaboração referente ao processo de curtimento de pele de peixe e pela sua amizade e incentivo.

Ao colega e amigo prof. Helder Antonio de Souza do Departamento de Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde – UNIDERP/MS, pelo auxílio constante durante a coleta das espécies para o desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas colegas e amigas Rosemary Matias, Maria Inês A. Jardim e Marcia R. Gorish da Uniderp pela amizade de todas as horas, incentivo e pela valiosa colaboração.

Ao Prof. Thomaz Lipparelli, pelo apoio e incentivo.

À Glaucia Monteiro de Castro, um pouco filha e amiga, pelo auxílio constante em todos os momentos no decorrer destes três anos.

À Rosa Ema Wilenmann Serrano, (Pós-Graduada em Morfologia), amiga muito especial que devido a semelhança de trabalho, auxiliou-me muito com sua experiência.

À Luciana Maluf e Auro Maluf pela confiança em receber-me como hospede em sua casa.

Aos amigos de todos os momentos, Olnei Portela e Delma Portela.

Aos meus amigos da Pós-Graduação: Monica, Júnior (as fotos), Celina (internet), Patrícia Aline, Adriene, Júlio, Patrícia Dourado, pela convivência gostosa durante esses três anos.

Aos técnicos do Laboratório de Histologia da Uniderp, Flávia e Angelo pelo auxílio sempre constante.

À Marta Beatriz Leonardo pela paciência em repassar sua experiência e pelo auxílio na confecção das lâminas histológicas.

Às queridas funcionárias Marta Almeida e Raquel Prata Vieira, e aos técnicos Cleusa de Oliveira Franco, Baltazar Pereira de Paula e Thelma Cristina Marsariolli pela valiosa amizade e auxílio técnico.

Aos funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biologia da UNICAMP, Adriane Sprogis e Antonia M. Lima pela atenção e presteza que me concederam.

Às secretárias Helena, Rita, Vânia e também a Liliam do Departamento de Biologia do Instituto de Biologia/UNICAMP, pelo carinho, colaboração sempre presente e atenção em momentos de necessidade.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação do BCE na pessoa da Profa. Dra. Shirlei Maria Recco-Pimentel.

À todos aqueles que direta e indiretamente colaboraram na realização desta tese.

## **ABREVIATURAS UTILIZADAS**

|     |                                     |
|-----|-------------------------------------|
| AB  | alcian blue                         |
| cc  | células claviformes                 |
| cm  | células mucosas                     |
| d   | derme                               |
| dc  | derme compacta                      |
| df  | derme frouxa                        |
| dp  | derme profunda                      |
| e   | epiderme                            |
| g   | estrato germinativo                 |
| i   | estrato intermédio                  |
| s   | estrato superficial                 |
| h   | hipoderme                           |
| HE  | hematoxilina-eosina                 |
| m   | melanóforos                         |
| mb  | membrana basal                      |
| n   | neuromasto                          |
| MEV | Microscópio Eletrônico de Varredura |
| PAS | ácido periódico-Schiff              |
| TM  | tricroômico de Masson               |

# SUMÁRIO

|                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                                    | <b>01</b> |
| <b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>                                            | <b>08</b> |
| 2.1 Materiais                                                           | 08        |
| 2.2 Métodos histológicos qualitativos e quantitativos                   | 09        |
| 2.2.1 Procedimentos gerais para microscopia de luz                      | 09        |
| 2.2.2 Análise Histoquímica                                              | 09        |
| 2.2.3 Avaliação histológica morfométrica                                | 11        |
| 2.3 Documentação fotográfica                                            | 12        |
| 2.4 Procedimentos gerais para microscopia eletrônica de varredura (SEM) | 12        |
| <b>3. RESULTADOS</b>                                                    | <b>14</b> |
| 3.1 Análise morfológica qualitativa                                     | 14        |
| 3.1.1a <i>Pimelodus maculatus</i> - Pele Dorsal                         | 14        |
| 3.1.1b <i>Pimelodus maculatus</i> - Pele Ventral                        | 17        |
| 3.1.2a <i>Hemisorubim platyrhinchus</i> - Pele Dorsal                   | 22        |
| 3.1.2b <i>Hemisorubim platyrhinchus</i> - Pele Ventral                  | 23        |
| 3.1.3 Análise Histoquímica                                              | 31        |
| 3.1.4 Análise Morfológica Quantitativa                                  | 49        |
| <b>4. DISCUSSÃO</b>                                                     | <b>55</b> |
| <b>5. CONCLUSÕES</b>                                                    | <b>68</b> |
| <b>6. ABSTRACT</b>                                                      | <b>70</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                                    | <b>71</b> |

---

## RESUMO

A pele dos peixes constitui-se na primeira barreira protetora entre o meio interno do animal e o ambiente; essa proteção se faz através de mecanismos de regulação iônica, hídrica e de defesa contra microrganismos do ambiente. Neste trabalho, estudou-se a morfologia do tegumento de duas espécies de peixes de couro da família *Pimelodidae*, coletados nos rios da bacia do rio Paraguai-MS: *Hemisorubim platyrhinchus* (jurupoca) e *Pimelodus maculatus* (mandi). Foram comparados os tipos celulares da epiderme e também a disposição das fibras colágenas da derme compacta das regiões dorsal e ventral. A análise dos resultados veio mostrar que a pele desses dois peixes possui um padrão estrutural comum, apresentando, no entanto, pequenas variações relacionadas principalmente com os hábitos do animal. Utilizando-se técnicas histoquímicas que demonstram mucosubstâncias neutras e ácidas, detectou-se nas células mucosas da epiderme a presença de carboidratos neutros nas duas espécies e carboidratos ácidos apenas na jurupoca. Nas células claviformes da jurupoca e do mandi pôde-se observar a presença de moderada quantidade de proteínas revelada pela reação da ninhidrina-Schiff. Com o método do Picrosirius-hematoxilina acoplado à observação pela microscopia de polarização, foi possível mostrar o arranjo e a orientação das fibras colágenas da derme compacta. Medindo-se a espessura da epiderme e da derme dos dois peixes, constatou-se que a jurupoca apresenta a epiderme das regiões dorsal e ventral mais espessa se comparada àquela do mandi; o mesmo ocorre com a derme dorsal. No que se refere à derme ventral, o mandi é a espécie com maior espessura. Os dados obtidos, em relação à derme, mostram que a pele desses peixes poderia ser

---

utilizada na confecção de artefatos de couro, uma vez que a disposição e a espessura de suas fibras colágenas conferem à mesma, resistência e maciez comparáveis às do couro de outros animais.

Palavras-chave: histologia; histoquímica; tegumento; célula mucosa; células claviformes; teleósteos..

## **1. INTRODUÇÃO**

---

Os peixes de couro, isto é, aqueles desprovidos de escamas, mostram uma pele lisa e desprotegida, apesar de que alguns deles apresentam-se com couraça de placas ósseas. Estes peixes pertencem a ordem *Siluriformes* e subordem Siluroidei. Geralmente estes peixes apresentam barbilhões desenvolvidos e uma das nadadeiras é adiposa, membranosa e sem raios. Todos os *Siluriformes* são encontrados em grandes quantidades, daí o interesse econômico por esses peixes (SANTOS, 1962).

Os representantes da espécie *Hemisorubim platyrhinchus* são peixes de couro que alcançam cerca de 50 cm de comprimento; apresenta cabeça grande que equivale à terça parte do seu comprimento; possuem pele escura, ardósia com manchas amarelas. Estes peixes são encontrados no fundo dos rios, em águas paradas, possuindo hábitos noturnos (SANTOS, 1962). Os peixes dessa família são popularmente chamados jurupoca ou jiripoca.

Os peixes da espécie *Pimelodus maculatus* são peixes de couro de pequeno porte, cerca de 20 cm de comprimento, possuindo três ferrões rijos, aguçados, em geral serrilhado (SANTOS, 1962). Vivem em lugares sombrios no fundo dos rios e também têm hábitos noturnos. Os peixes dessa família são popularmente chamados de mandi.

Vários autores, estudando a pele sob o ponto de vista histológico e histoquímico, mostraram que as peles dos peixes possuem diferentes componentes estruturais, que desempenham funções distintas. Essa pele constituiu-se na primeira barreira entre o meio interno do animal e o ambiente.

A estrutura da pele varia nas diferentes espécies de teleósteos, sendo basicamente constituída por duas camadas: a camada mais superficial ou epiderme e a camada mais interna ou derme, subjacente à epiderme. Essas duas camadas repousam sobre uma hipoderme ou tela subcutânea (HENRIKSON & MATOLTZY, 1968; MERRILEES, 1974; GRIZZLE & ROGERS, 1976; ZACCONE, 1979; ZACCONE & CASCIO, 1981; GROMAN, 1982; WHITEAR, M, 1986; HERTWIG et al., 1992; FISHELSON, 1996).

Em geral, podem ser encontrados órgãos acessórios na pele, tais como: receptores sensoriais, escamas, glândulas mucosas e glândulas de veneno (HIBIYA, 1982).

A epiderme é constituída por um epitélio estratificado, que se encontra separado da derme por uma membrana basal, às vezes, bem nítida à microscopia de luz.

Alguns autores dividem a epiderme em duas subcamadas: o estrato de células poligonais e o estrato germinativo composto por células epiteliais, apoiadas na membrana basal (GRIZZLE & ROGERS, 1976; HIBIYA, 1982); outros, no entanto, organizam essa epiderme em três subcamadas: o estrato germinativo, o estrato intermédio e o superficial (MITTAL, 1970; MITTAL et al., 1976; ZACCONE, 1980; ZACCONE & CASCIO, 1981; WHITEAR & MITTAL, 1986; SINGH & MITTAL, 1990; HERTWIG et al., 1992).

Vários autores descrevem a camada basal ou estrato germinativo da epiderme como sendo constituído por um único estrato de queratinócitos com formato cúbico ou prismático, cujos núcleos são esféricos ou elípticos e de cromatina frouxa. Esse estrato repousa em uma fina membrana basal, que é fortemente PAS positiva (ZACCONE, 1981). Nesta camada, são encontrados inúmeros linfócitos infiltrados entre as células basais.

O estrato intermédio, nos teleósteos, pode ser composto por vários tipos celulares, sendo os mais comuns as células epiteliais (queratinócitos), que se arranjam em diversas camadas, as células claviformes e as células mucosas. As células epiteliais desse estrato são alongadas devido à pressão lateral exercida pelas volumosas células claviformes. Cada célula epitelial apresenta um núcleo esférico, central e citoplasma acidófilo.

No estrato superficial, as células epiteliais possuem forma achatada e núcleo oval, essas células organizam-se em duas ou quatro subcamadas entre as quais encontram-se as células mucosas. Algumas células epiteliais da superfície mostram um citoplasma basófilo, cromatina frouxa e nucléolo evidente, a secreção dessas células (mucosubstâncias ácidas) forma uma cutícula na superfície da epiderme, que segundo WHITEAR (1970), proporciona viscosidade e proteção osmótica à pele (MERRILEES, 1974; CARMIGNANI & ZACCONE, 1975; MITTAL & BANERJEE, 1975; ZACCONE, 1980; WHITEAR & MITTAL, 1986; SINGH & MITTAL, 1990; MITTAL et al., 1994).

HERTWIG et al. (1992) observaram que as células epiteliais da camada mais superficial da epiderme são achatadas, apresentando microdobras que se arranjam paralelamente à superfície desse estrato, quando vistas ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). Essas microdobras, dispostas em espiral, têm padrão característico para cada espécie,

assemelhando-se, portanto, a uma impressão digital. O verdadeiro significado da organização dessas microdobras não é ainda bem conhecido, mas parece que essas dobras protegem a membrana externa da célula contra a abrasão; além disso, os sulcos entre essas dobras servem para aprisionar o muco secretado pelos mucócitos (MERRILEES, 1974; FISHELSON, 1984; WHITEAR e MITTAL, 1986; FISHELSON, 1996; DOURADO et al. 1996).

Vários autores demonstraram que na epiderme de muitas espécies de peixes podem ser encontradas células mucosas (mucócitos). De modo geral, a secreção produzida pelas células mucosas contém carboidratos neutros e ácidos (LEPPI, 1968; JUNQUEIRA et al., 1970; CARMIGNANI & ZACCONE, 1974; MITTAL & BANERJEE, 1975; SULTANA & RAO, 1990; MITTAL et al., 1994; OTTESEN & OLAFSEN, 1997). Essa secreção mucosa parece estar relacionada não só com o mecanismo de proteção contra abrasões mecânicas, como também com a defesa contra infecções, uma vez que esses peixes vivem em um meio que abriga uma diversidade de microrganismos (PICKERING, 1974; PICKERING & MACEY, 1977; INGRAN, 1980).

YAMADA (1975) mostrou que as células mucosas sofrem alterações na sua morfologia no decorrer das estações do ano; por exemplo, no inverno são maiores, apresentando maior atividade secretando assim, grandes quantidades de muco; no verão, no entanto, a produção de muco é muito menor.

OTTESEN & OLAFSEN (1997) demonstraram que durante o desenvolvimento embrionário do *Hipoglossus hipoglossus*, o número das células mucosas na epiderme apresentou-se em maior quantidade na fase de metamorfose do que na fase larvária, estando localizadas nos estratos médio e superficial.

HALACKA (1995) verificou que, durante o período de desova de *Chondrostoma nasus*, ocorre um aumento na espessura da epiderme e, além disso, nos machos, ocorre concomitantemente, um aumento de células mucosas, resultando, assim, uma produção excessiva de muco.

Os mucócitos presentes na epiderme dos teleósteos mostram distribuição, tamanho e número que variam com a espécie e dentro da mesma espécie. Por exemplo, em *Cyprinus carpio*, o número de células mucosas é elevado, apresentando-se em maior concentração no

estrato superficial da epiderme; essas células dispõem-se em várias camadas e sua secreção contém carboidratos neutros e ácidos. Nessas carpas foi observada, também, uma grande quantidade de células mucosas pequenas, de formato irregular que sintetizam apenas carboidratos neutros. Estas células menores foram observadas na camada média da epiderme (YAMADA & YOKOTE, 1975; MITTAL et al., 1975; SINGH & MITTAL, 1990; STRUSSMAN et al., 1994). Além disso, a quantidade e a qualidade do muco produzido por essas células menores apresentam variações que estão na dependência do pH e da temperatura do meio (RAJAN & BANERJEE, 1991; IGER & BONGA, 1994; BURKHARDT-HOLM et al., 1997; GONZALEZ et al., 1998; QUINIOU et al., 1998).

EASTMAN & HIKIDA (1991) e MITTAL et al. (1994) analisando a pele da enguia *Monopterus albus*, mediante técnicas histoquímicas para carboidratos, identificaram dois tipos de células mucosas: a do tipo A que são maiores, mais numerosas e de formato alongado e que se localizam na camada superficial da epiderme. Estas células mostram uma PAS reatividade de fraca a moderada e uma reação fortemente positiva para o alcian blue. As células do tipo B, por sua vez, são menores, menos numerosas, localizadas quase junto à membrana basal. Essas células mucosas são fortemente PAS positivas e com fraca positividade ao azul de alcian em pH 1,0 e 2,5.

Com relação às células claviformes, presentes em geral no estrato intermédio da epiderme, pode-se dizer que estão relacionadas com a síntese de substâncias de alarme (feromônios) que induzem à reação de fuga, em peixes da mesma espécie. Alguns autores sugerem, ainda, que essas células claviformes exerçam função protetora contra agentes agressores, uma vez que elas produzem uma substância não palatável aos predadores (MITTAL & MUNSHI, 1970; PFEIFER, 1977; ZACCONE, 1979; ZACCONE, 1980; WHITEAR & MITTAL, 1983; SINGH & MITTAL, 1990; RALPHS & BENJAMIN, 1992).

WHITEAR & ZACCONE (1984) ao estudar as células claviformes de enguias, no microscópio eletrônico, observaram que essas células encontram-se situadas tanto nas camadas mais profundas da epiderme como próximas à sua superfície. Nessas enguias, as células claviformes apresentam forma oval ou alongada, com grande quantidade de

vacúolos citoplasmáticos de tamanhos variados, situados nas proximidades do núcleo; o núcleo dessas células mostra um nucléolo bem evidente.

As células claviformes mostram reação positiva para proteínas, tanto nos vacúolos ao redor do núcleo, quanto no citoplasma; além disso, dependendo da espécie, a secreção pode ou não ser positiva para glicoproteínas (ZACCONE, 1979; RANDALL et al., 1981; WHITEAR & ZACCONE, 1984; SULTANA & RAO, 1990). Na enguia *Anguilla*, as células claviformes são negativas para PAS e para o alcian blue, indicando que as secreções dessas células não apresentam nem carboidratos neutros e nem ácidos (WHITEAR & ZACCONE, 1984).

Em alguns peixes (principalmente naqueles sem escamas) e em anfíbios aquáticos observam-se estruturas dispostas descontinuamente ao longo da epiderme; essas estruturas são denominadas neuromastos e possuem um padrão estrutural semelhante, na maioria dos teleósteos (BULLOCK & ROBERTS, 1975). Os neuromastos são estruturas constituídas por células de sustentação e células sensoriais com processos filiformes. Geralmente, têm a forma de um botão localizado na epiderme. Acima desse botão, encontra-se uma “cúpula”, que representa uma cobertura gelatinosa secretada pelas células neuromásticas. Essa “cúpula” se move de acordo com os movimentos da água ao seu redor. A quantidade de neuromastos encontrados na pele dos peixes depende do habitat da espécie. Essas estruturas são responsáveis pela recepção de estímulos mecânicos provenientes do movimento da água (BULLOCK & ROBERTS, 1975; GELINEK, 1978; OKITSU & OBARA, 1978; ROMER, 1985; KENT, 1987; ARRATIA & HUAQUIN, 1995).

BENSOUILAH & DENIZOT (1991) demonstraram, através de cortes seriados, em todo o corpo do peixe cego *Astyanax jordani*, que os neuromastos epidermais estão distribuídos por toda a epiderme, com exceção dos lábios, sendo numerosos na região do opérculo e nadadeira caudal. Esses autores também mostraram que os neuromastos são constituídos por dois tipos celulares: as células mais escuras ou células de suporte e as células mais claras ou células sensoriais.

Geralmente, a organização da derme dos teleósteos mostra que essa camada da pele é constituída por um tecido conjuntivo no qual há predominância de fibras colágenas. Essa camada exhibe, na maioria das vezes, duas subcamadas: a mais superficial, situada abaixo da

membrana basal, constitui-se de uma estreita faixa de tecido conjuntivo frouxo (derme frouxa ou superficial); a camada mais interna, por sua vez, é composta de tecido conjuntivo denso modelado, no qual as fibras colágenas apresentam-se orientadas numa única direção (derme compacta, derme profunda ou derme reticular), (JUNQUEIRA et al., 1970; JUNQUEIRA et al., 1982, 1983; WHITEAR & MITTAL, 1986; KELLY et al., 1988; DOURADO et al., 1996; SOUZA et al., 1997).

JUNQUEIRA et al. (1982) & MONTES (1996) utilizaram o método do Picrosirius-polarização para identificar os tipos de colágeno da derme de vários peixes. Esses pesquisadores mostraram que esse método pode ser utilizado para se estudar a disposição e orientação das fibras colágenas.

O couro de peixe é um material cada vez mais empregado como alternativa na produção de artefatos, calçados e enfeites de vestuário. No Canadá, por exemplo, a produção de peles de carpa – hoje em torno de 1,5 milhão de unidades/ano – está a pleno vapor. Elas são comercializadas no tamanho aproximado de 500 cm quadrados, a um preço três vezes superior ao das peles bovinas (TECNICOURO, 1990).

As peles exóticas, tais como as de rã, peixes, perus e de pés de galinha têm importância econômica. Essas peles podem alcançar preços atraentes, são empregadas na confecção de pulseiras de relógio, cintos, tiaras, fivelas e ainda, na forma de peças pequenas (recortes) para enfeitar calçados e roupas.

O Instituto de Pesquisas Tecnológicas – IPT, sediado em Franca (SP), montou um curtume especializado em peles exóticas. Os pesquisadores desse Instituto desenvolveram técnicas de curtimento, tingimento e preparo de peles de peixes (pirarucu, cação, carpa e tilápia) e rãs (GLOBO RURAL E ECONOMIA, 1990). Acredita-se que a utilização das peles de peixes poderá fazer diminuir a caça predatória às cobras e jacarés, porque a aparência das peles dessas três espécies de animais é muito semelhante.

O problema é que o preço da pele tratada é alto para o mercado consumidor brasileiro, até mesmo para o estrangeiro, pois para fazer uma jaqueta, por exemplo, são usadas centenas de unidades.

Além dos peixes, outras empresas se dedicam ao curtimento de peles retiradas dos pés e peito de perus, pés de galinhas e patos. O preço da pele de 2cm de largura por 12 cm de comprimento oscila ao redor de 1 dólar (GLOBO RURAL E ECONOMIA, 1990).

A pele de peixe é um produto nobre e de alta qualidade, possuindo resistência como característica peculiar. No curtimento, é mantida a natureza fibrosa da pele, porém as fibras são previamente separadas pela remoção do tecido interfibrilar e pela ação de produtos químicos. Após a separação das fibras e da remoção do material interfibrilar, as peles são tratadas com substâncias denominadas curtentes, que as transformam em couros ou peles processadas.

O arranjo estrutural das fibras colágenas da derme compacta, bem como a espessura desse estrato, permite que a pele possua grande resistência às diferentes forças de tração (JUNQUEIRA et al., 1983). Por essa razão, a pele de algumas espécies pode ser utilizada comercialmente na confecção de artefatos de couro.

Levando-se em consideração as diferenças estruturais existentes na pele dos peixes, o objetivo deste trabalho foi estudar, comparativamente, o tegumento de duas espécies de teleósteos: *H. platyrhinchus* (jurupoca) e *P. maculatus* (mandi), coletados nos rios das bacias do rio Paraguai – MS.

O foco principal deste estudo esteve centrado na identificação dos diferentes tipos celulares presentes na epiderme e na disposição estrutural das fibras colágenas da derme compacta, visando correlacionar não só a estrutura do tegumento com o habitat do animal, como também verificar se as peles dessas duas espécies poderiam ser utilizadas na confecção de artefatos de couro.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

## 2.1 – Material

Para o estudo proposto, foram utilizados espécimes adultos, machos e fêmeas, da família Pimelodidae, ordem Siluriformes e subordem Siluroidei, representada pelas espécies *Hemisorubim platyrhinchus* e *Pimelodus maculatus*, coletados no rio Aquidauana – MS.

A captura de 8 exemplares adultos de cada espécie (*Hemisorubim platyrhinchus* e *Pimelodus maculatus*) foi feita com tarrafas de malha nº 12 ou, então, por meio de anzol. Em seguida, os comprimentos total (Lt em centímetros: distância da extremidade do focinho até a extremidade da nadadeira) e padrão (Lp em centímetros: distância da extremidade do focinho até a extremidade do pedúnculo caudal) foram avaliados por intermédio de ictiômetro com escala centesimal e pesados (Wt: em gramas) em balança com sensibilidade de 1g.

As medidas total e padrão foram obtidas colocando-se o animal com seu flanco direito sobre o ictiômetro; a unidade adotada foi em centímetros com aproximação para a unidade imediatamente inferior. Após, os animais foram anestesiados com clorobutanol (concentração de 200 ppm, diluição de 4 ml da solução para 1 l de água) para se efetuar a retirada das amostras.

De cada exemplar foram coletadas amostras de pele da região dorsal média (entre a linha lateral e a nadadeira dorsal) do lado esquerdo, e da região ventral, próximo à nadadeira ventral.

---

## **2.2 – Métodos histológicos qualitativos e quantitativos**

### **2.2.1 – Procedimentos gerais para microscopia de luz**

Após as amostras serem fixadas em solução de Bouin em campo, foram levadas para o laboratório da UNICAMP para serem processadas. Os fragmentos de pele foram processados de acordo com os métodos rotineiros de laboratório, isto é, desidratados em gradientes de álcool à temperatura ambiente, diafanizados em xilol, embebidos e incluídos em parafina e/ou historresina. Os cortes histológicos de aproximadamente 5 a 7µm de espessura foram submetidos à coloração pela hematoxilina – eosina (HE) (LUNA, 1968 modificado) e pelo tricrômico de Masson (TM) (MICHALANY, 1980). Os cortes histológicos de 1–2µm de espessura, obtidos do material incluído em historresina, foram corados pelo azul de toluidina (AT) (TOCK & PEARSE, 1965).

### **2.2.2 – Análise Histoquímica**

Testes histoquímicos padronizados foram utilizados para detectar-se proteínas, carboidratos e colágeno. As amostras utilizadas para as reações histoquímicas seguiram os mesmos métodos descritos acima.

1. Ácido Periódico-Schiff – PAS (PEARSE, 1968) para a identificação de açúcares neutros

2. Alcian Blue pH 2,5 - AB (BANCROFT & STEVENS, 1990) para açúcares com radicais ácidos carboxilados e/ou sulfatados (uma mucossubstância).
3. Alcian Blue pH 0,5 - AB (BANCROFT & STEVENS, 1990) para polissacarídeos ácidos com grupos sulfatos.
4. Reação de ninhidrina-Schiff (YASUMA & ICHIKAWA, 1953) demonstração de proteínas (alfa-aminoácidos) e proteínas totais.
5. Picrosirius-hematoxilina (JUNQUEIRA et al., 1979) para evidenciar o arranjo estrutural do colágeno da derme superficial e profunda.

**\*OBSERVAÇÃO:** - Convencionou-se considerar, neste trabalho, o termo mucossubstância ao invés de termos ambíguos, tais como: mucina, mucóide, mucopolissacarídeo, mucoproteína, sulfomucina e vários outros. Assim, por definição, as mucossubstâncias são compostos macromoleculares constituídos, inteiramente ou em parte, por carboidratos, englobando, portanto, polissacarídeos, glicoproteínas e proteoglicanos.

Por outro lado, o termo “açúcar neutro” usado neste trabalho, embora não seja adequado no sentido estritamente químico, é utilizado pelos histoquímicos para resíduos de açúcares que não possuem grupos ácidos (que podem ser carboxilas ou grupamentos sulfatos). Glicose, galactose, manose e fucose são os principais açúcares neutros presentes nas mucossubstâncias.

Além disso, como se sabe, a oxidação pelo ácido periódico usado na reação do PAS produz aldeídos a partir de radicais vic-glicóis presentes na glicose, galactose, manose, fucose e no ácido siálico, que podem estar fazendo parte da molécula do glicogênio (caso da glicose) e das glicoproteínas. Assim, para afastar-se a possibilidade de que a PAS

positividade fosse devida ao glicogênio, lâminas-controle foram previamente incubadas com amilase (KIERNAN, 1990) antes da realização da reação do PAS.

Deve-se destacar, ainda, que os proteoglicanos (compostos macromoleculares, que estão classificados dentro das mucossubstâncias) são sempre PAS negativos porque o tratamento usual com o ácido periódico falha na oxidação dos radicais vic-glicóis, presentes nos ácidos glicurônico e idurônico.

### 2.2.3 – Avaliação histológica morfométrica

Nas lâminas correspondentes a cada indivíduo, analisaram-se 03 cortes obtidos das regiões dorsal e ventral; em cada corte, a espessura das diferentes camadas foi avaliada em 03 regiões distintas (mediana e laterais) totalizando, ao final, 36 medidas para cada espécie; essas medidas foram feitas com o auxílio de uma ocular de tambor 10x com filamento deslocável e objetivas de 40x. Essas medidas foram obtidas de 4 indivíduos da espécie *Pimelodus maculatus* e 4 da espécie *Hemisorubim platyrhinchus*.

Após a realização das medidas, procedeu-se à calibração da ocular com uma lâmina especial (CARL ZEISS) provida de divisões de 0,01mm (10 $\mu$ m), visando transformar as unidades da ocular em micrômetros. Os valores medidos foram multiplicados pelo coeficiente micrométrico de cada objetiva e foram expressos em micrômetros ( $\mu$ m).

Todos os valores obtidos nas análises morfométricas tiveram sua média e desvios padrões calculados.

Os resultados estão representados através de tabelas e gráficos.

As análises morfométricas foram feitas apenas em espécimes adultos (*Hemisorubim platyrhinchus* e *Pimelodus maculatus*), condição comprovada através das medidas de peso total, comprimento padrão e comprimento total.

## **2.3 Documentação fotográfica**

O material foi fotografado em fotomicroscópio CARL-ZEISS/JENA, modelo JENALUMAR em objetivas planacromáticas, usando-se filme Proimage 100, 135mm - Kodak profissional.

## **2.4 Procedimentos gerais para microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.)**

As amostras de pele de 0,5 x 0,5 cm de espessura das regiões média dorsal e ventral, foram retiradas e fixadas em uma solução de glutaraldeído 2,5% (Polaron, Watford, Inglaterra), diluído em tampão fosfato 0,1 M de pH 7,4 durante 24 horas sob refrigeração. Após, o material foi lavado em tampão e pós-fixado em solução aquosa de tetróxido de ósmio 1% "overnight" sob refrigeração e novamente lavados em tampão.

A seguir, as amostras foram desidratadas em um gradiente de etanol e realizada a secagem no aparelho de ponto crítico BALZERS CPD 30. Estas amostras foram montadas em porta-espécimes com uma fita adesiva dupla-face, cobertos com ouro em um metalizador BALZERS SCD 050.

Os materiais foram analisados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (MEV) em uma aceleração de 10kV, JEOL JSM – 5800 LV do Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) do Instituto de Biologia (IB) – UNICAMP/Campinas – SP.

### 3.1 – Análise morfológica qualitativa

#### •*Pimelodus maculatus*

##### 3.1.1a – Pele dorsal

A pele do mandi (*Pimelodus maculatus*) é formada por duas camadas distintas: epiderme e derme subjacente (Fig. 1A, 1D).

A epiderme é constituída por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, dividido em três estratos: o estrato germinativo ou basal, composto de células cilíndricas, dispostas em uma única camada; o estrato intermédio, por sua vez, possui duas ou três camadas de células poligonais com núcleo esférico (essas células tornam-se pavimentosas à medida que se aproximam da superfície), e o estrato superficial apresentando duas a quatro camadas de células epiteliais achatadas (Fig. 1A-C).

No estrato intermédio, podem ser observadas grandes células claviformes dispostas em uma única fileira. Algumas destas células são binucleadas, com um halo claro ao redor do núcleo. Nesse mesmo estrato notam-se, ainda, células claviformes menores (Fig. 1A-C). A ultra-estrutura dessas células, vista através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), mostra que elas estão ancoradas em um estrato basal e que possivelmente, se originam-se a partir desse estrato (Fig.3D, 4A).

Entre as células epiteliais do estrato superficial, observam-se células mucosas com citoplasma claro, núcleo achatado de cromatina densa accolado à membrana do polo basal da

célula. O muco liberado pelas células mucosas forma uma estreita faixa levemente basófila cobrindo toda a superfície da epiderme (Fig. 1C, 3C).

Entre as células epiteliais do estrato germinativo e aquelas das primeiras camadas do estrato intermédio, podem ser encontrados numerosos linfócitos (Fig. 1A, 1B, 1D).

Em alguns locais da superfície da epiderme, foram encontradas elevações pontiagudas intensamente coradas pela eosina, denominadas espículas córneas (1D, 3D). Abaixo dessas espículas, encontram-se células muito acidófilas, que formam um estrato semelhante ao estrato espinhoso da epiderme da maioria dos mamíferos (Fig. 1D, 3D).

Na região apical da epiderme, as células epiteliais são achatadas e a superfície é coberta com microdobras, arrançadas mais ou menos em paralelo a cada célula. Sobre a superfície epitelial como um todo, as microdobras formam um padrão irregular.

Na região dorsal, podem-se observar com relativa frequência, neuromastos inseridos na epiderme e de formato ovalado, ocupando toda espessura dessa camada. Essas estruturas sensoriais são geralmente constituídas por células alongadas, que apresentam no polo apical, processos filiformes; o conjunto desses processos forma a denominada “cúpula”. Sobre esses neuromastos, encontra-se uma a duas camadas de células de citoplasma levemente basófilo (3A, 3B, 3C).

A epiderme é separada do estrato subjacente (derme) por uma membrana basal espessa e nitidamente visível ao microscópio de luz (3D). Abaixo dessa membrana basal, observa-se uma camada cromatófórica contínua, formada por melanóforos, que são células com vários prolongamentos que contêm grânulos de melanina; a cor desse pigmento pode variar do castanho ao preto. Esses melanóforos podem, ainda, ser encontrados no limite entre a derme profunda e a hipoderme (tela subcutânea) (Fig. 1A-C).

A derme é subdividida em dois estratos: um superficial ou frouxo, subjacente à epiderme, formando uma estreita faixa constituída por fibras colágenas delgadas e esparsas, contendo vasos de pequeno calibre (Fig. 1A,1B, 3A); e um estrato mais profundo (compacto) no qual as fibras colágenas são espessas e orientadas numa única direção, isto é, são paralelas à superfície da pele, caracterizando um tecido conjuntivo denso modelado. O estrato compacto da derme é o responsável pela considerável espessura apresentada pela pele desta espécie de peixe (Fig. 1A).

Tanto o estudo histoquímico do colágeno, através do método da Picrosirius-polarização, quanto a análise ultra-estrutural ao MEV, permitiram verificar a disposição e o arranjo das fibras colágenas (Fig.4B, 14A, 14B).

Pelo método da Picrosirius-polarização podem-se observar fibras de coloração amarelo-avermelhada, fortemente birrefringentes. Também foram vistas fibras colágenas mais espessas, fortemente birrefringentes e de coloração avermelhada (4B) e que possivelmente correspondam às fibras colágenas mais espessas, orientadas paralelamente umas das outras como observado ao MEV (Fig. 4B).

As duas camadas que constituem a pele (epiderme e derme), repousam sobre a hipoderme, que é composta de um tecido conjuntivo frouxo contendo quantidade considerável de células adiposas; nessa camada observam-se, ainda, vasos e nervos (Fig. 1A, 1B).

### 3.1.1.b – Pele Ventral

A organização estrutural da pele da região ventral segue àquela descrita para a pele dorsal. A diferença marcante entre essas regiões (dorsal e ventral) encontra-se na maior espessura apresentada pela epiderme da pele ventral (Fig. 2A, 2B e 2C).

Além disso, o estrato superficial mostra áreas constituídas por células pavimentosas que se alternam com áreas de células cúbicas. Nesta região da pele, observa-se, também, uma fina cutícula que recobre o estrato superficial (provavelmente muco liberado pelas células mucosas, presentes no estrato superficial) (Fig. 2B, 2E).

No estrato intermédio desta região, puderam-se observar células claviformes binucleadas (Fig. 2D, 2E)

Diferentemente da pele dorsal, na pele ventral não se encontram melanóforos localizados no limite da epiderme com a derme superficial e da derme profunda com a hipoderme (Fig. 2A, 2C).

A constituição da derme desta região segue também o mesmo padrão já descrito para a pele dorsal (Fig. 2A).

Pelo método do Picrosírius-polarização, observaram-se, na derme compacta ou derme profunda, fibras colágenas espessas de cor vermelha, orientadas não só paralelamente em relação à epiderme, como também orientadas perpendicularmente à superfície cutânea. Mais profundamente, junto da hipoderme podem-se notar, ainda, fibras colágenas menos espessas, paralelas à epiderme e de coloração amarelo-avermelhada e fortemente birrefringentes (Fig. 6A e 6B).

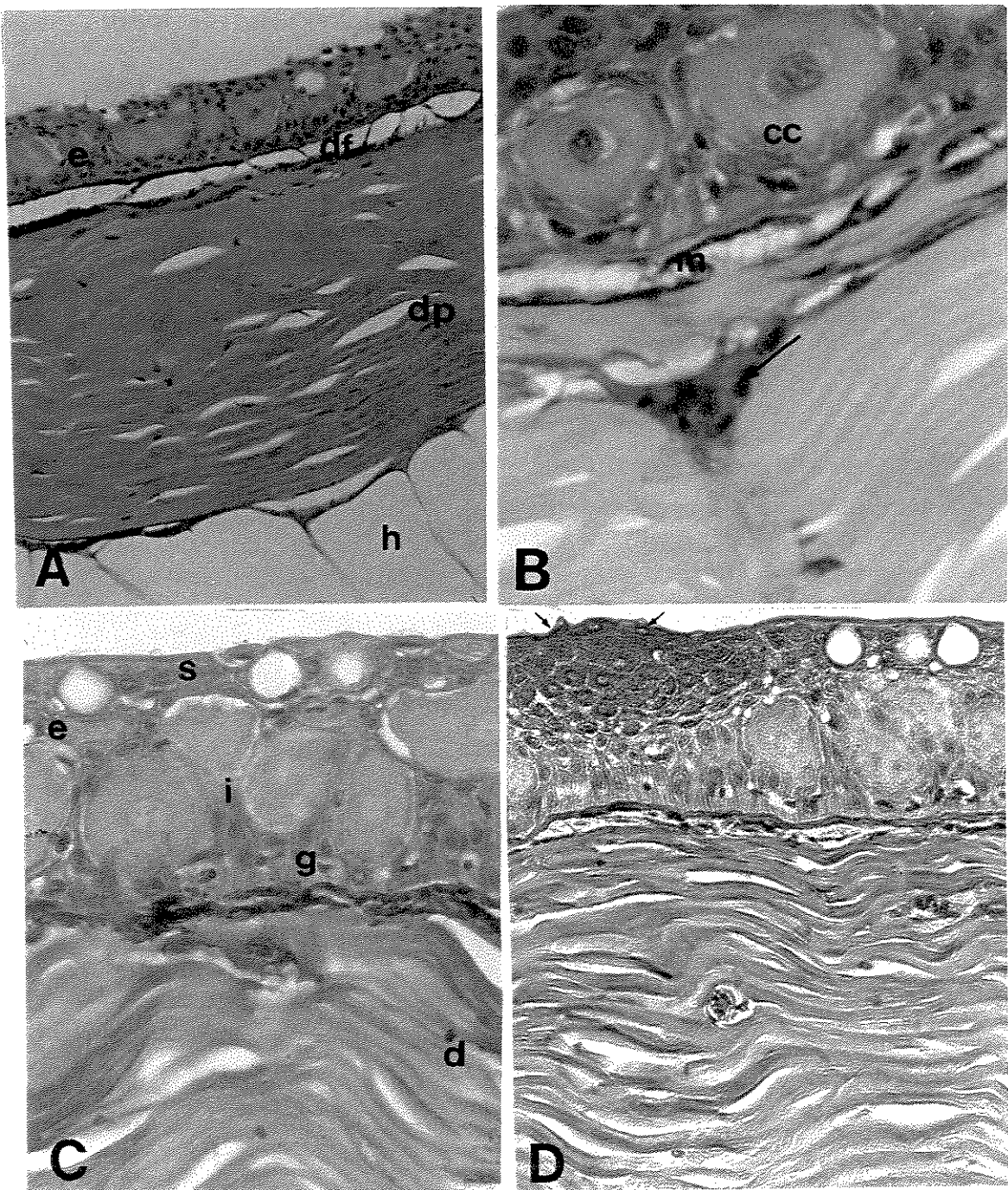


Fig. 1 – *Pimelodus maculatus* – Pele dorsal:

- (A) Observam-se a epiderme (e), a derme frouxa (df), a derme profunda (dp) e a hipoderme (h). HE. Aumento: 256x.
- (B) Notar células claviformes (cc) inseridas no epitélio. Abaixo da epiderme vê-se uma camada contínua de melanóforos (m) e na derme superficial vasos sanguíneos (seta). HE. Aumento: 1000x.
- (C) Corte transversal mostrando a organização da epiderme (e), constituída por um epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado e seus estratos: germinativo (g), intermédio (i) e superficial (s). Abaixo a derme (d). HE. Aumento: 512x.
- (D) Nessa foto pode-se observar que em determinadas áreas o estrato mais superficial da epiderme exhibe elevações pontiagudas (setas). HE. Aumento: 400x.

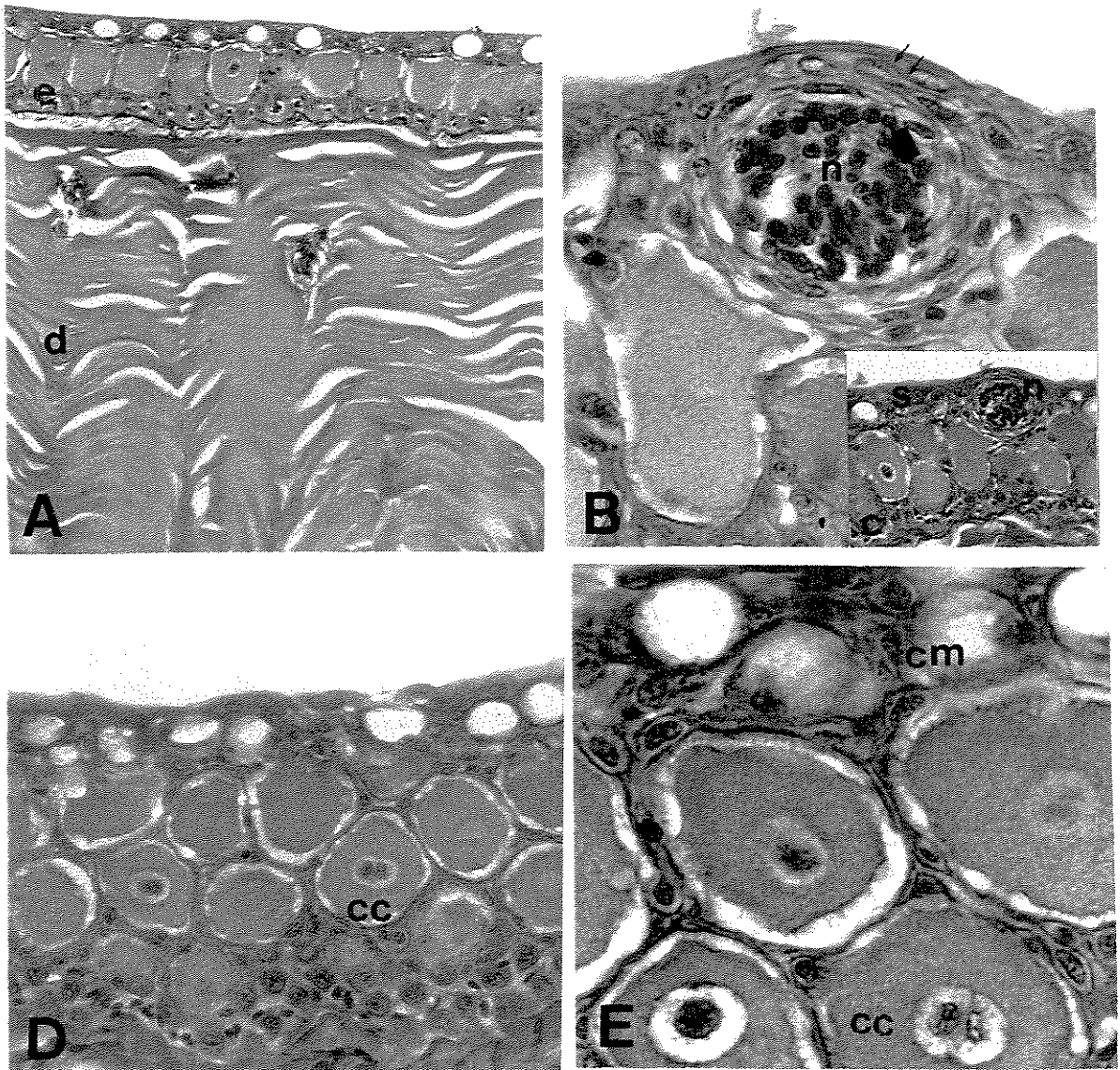


Fig. 2 – *Pimelodus maculatus* - Pele ventral:

- (A) Visão panorâmica da pele mostrando a epiderme (e) e derme(d). HE. Aumento: 256x.
- (B) Notar um neuromasto superficial (n) localizado no sulco da epiderme, mostrando células sensoriais (cabeça de seta). Na parte apical da estrutura notamos células levemente basófilas constituindo duas camadas (seta). HE. Aumento: 1040x.
- (C) Uma visão “panorâmica” do neuromasto superficial (n) entre as células mucosas no estrato superficial (s) e, abaixo deste células claviformes, no estrato intermédio. HE. Aumento: 256x.
- (D) Uma região da pele ventral mais espessa constituída por três camadas de células claviformes (cc). Observar que entre a epiderme e derme não são vistos os melanóforos. HE. Aumento: 512x.
- (E) Um detalhe em maior aumento da epiderme, evidenciando células mucosas e uma célula claviforme binucleada (cc). HE. Aumento: 1024x.

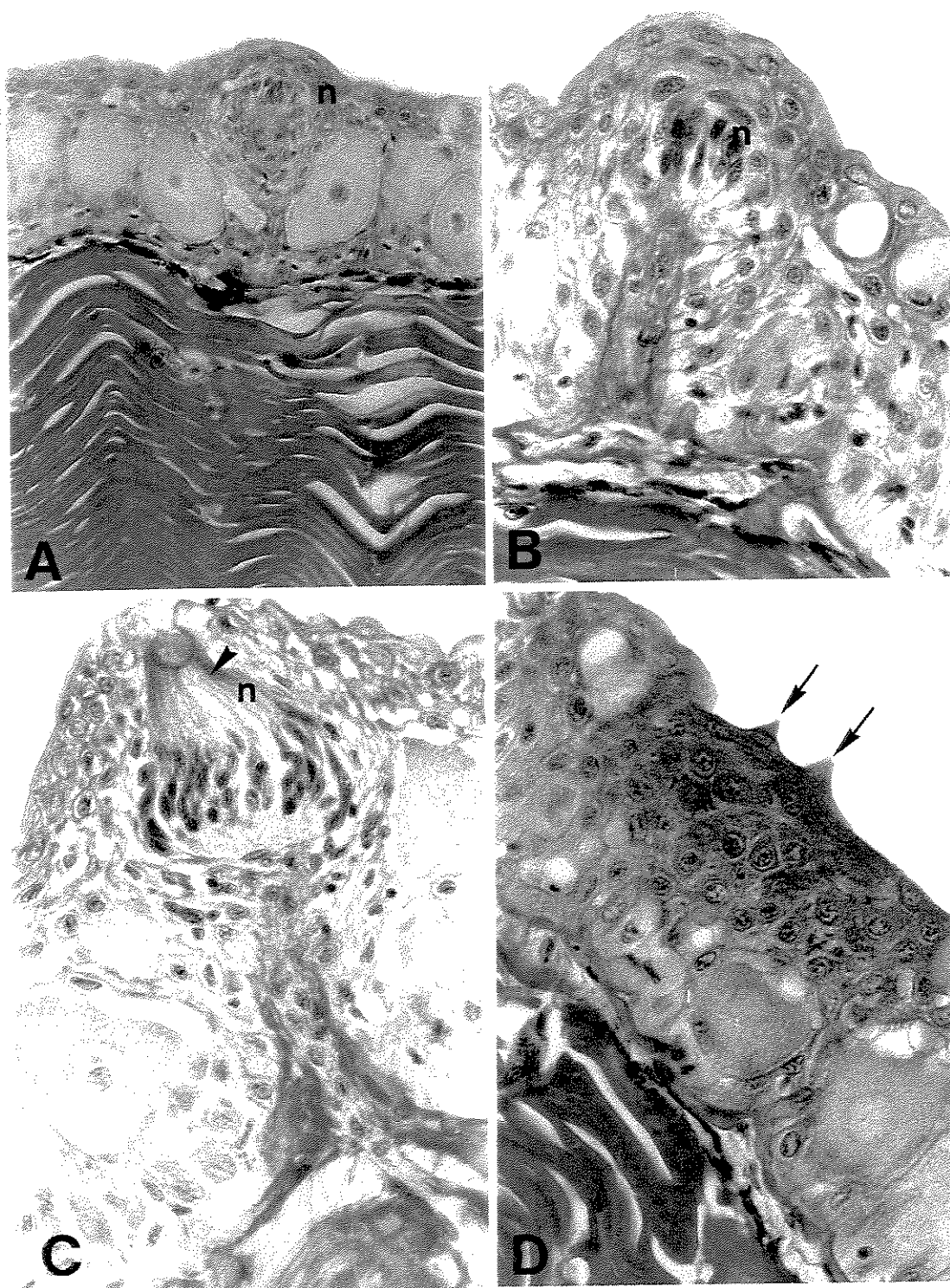


Fig. 3 – *Pimelodus maculatus* - Pele dorsal:

(A), (B) e (C) neuromastos (n) em vários aumentos, mostrando células sensoriais e processos filiformes (cabeça de seta). Tricrômico de Masson (TM). Aumento: A= 512x; B e C= 1024x.

(D) Nesta foto pode-se observar evidentes espículas córneas (setas). TM. Aumento: 1024x.

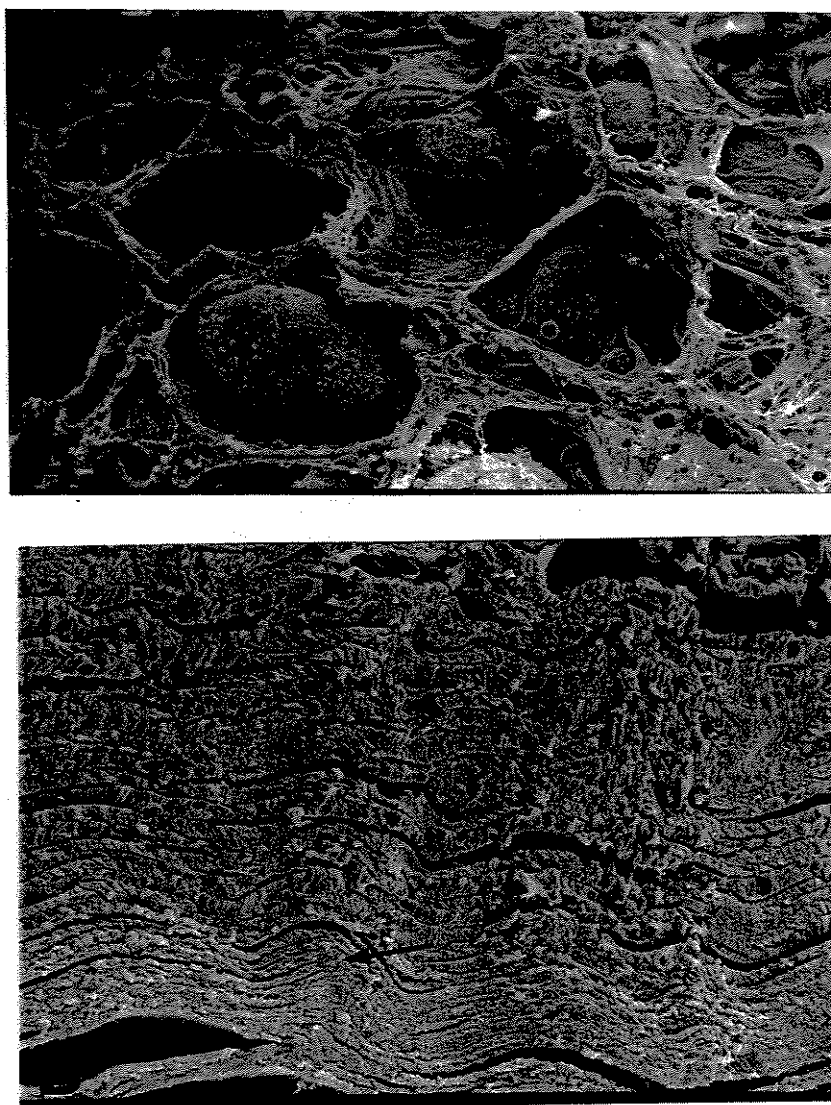


Fig. 4 – *Pimelodus maculatus* - Pele dorsal – Microscopia eletrônica de varredura (MEV).  
(A) Notar as células claviformes (cc) que constituem o estrato intermédio (i) da epiderme. 500x.  
(B) A foto mostra o arranjo e a orientação das fibras colágenas da derme compacta (dc). Verificar que nessa camada as fibras mais próximas da hipoderme apresentam-se mais onduladas e com orientação paralelas à mesma (setas). 750x.

---

•*Hemisorubim platyrhinchus*

3.1.2.a – Pele Dorsal

Na jurupoca (*Hemisorubim platyrhinchus*), o padrão tegumentar segue àquele descrito para a espécie *Pimelodus maculatus (mandi)* (Fig. 5A).

No que se refere às células claviformes, estas são encontradas não só no estrato intermédio, como no mandi, mas também ocupam o estrato basal e o superficial. Além disso, nesta espécie, as células claviformes apresentam diferenças significativas no que diz respeito à forma e ao tamanho, sendo maiores e mais alongadas, com citoplasma preenchido por grânulos de secreção, não havendo halo claro ao redor do núcleo. Algumas células claviformes apresentam-se binucleadas, com núcleos de cromatina frouxa e nucléolo evidente (Fig. 5A, 5B, 6A, 6B, 6C).

O estrato superficial da epiderme organiza-se em duas a três camadas de células epiteliais achatadas que ao MEV formam um padrão de microdobras (Fig. 14A). Entre essas células epiteliais notam-se células mucosas menores, em menor número se comparadas àquelas da epiderme do mandi (Fig. 8B).

Nas camadas superficiais da epiderme, encontram-se neuromastos de forma e tamanho diferentes daqueles do mandi. Na jurupoca, podem-se observar dois tipos de órgão sensorial: neuromastos encontrados na superfície da epiderme, como já descrito para o mandi, e órgãos sensoriais que se encontram numa reentrância da camada mais superficial da epiderme, possuindo forma ampular. Essas estruturas são pequenas e com poucas



células. Como os demais neuromastos, também estão imersos na epiderme. Ao MEV pode-se observar um neuromasto superficial (9A).

Abaixo da espessa membrana basal, observa-se uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo. Os componentes estruturais deste tecido incluem células com pigmentos - os melanóforos, vasos sanguíneos e nervos (Fig. 5A, 5B, 6C).

Os melanóforos formam uma camada descontínua; são de cor marrom, escuros e localizados abaixo da epiderme e também no limite entre a derme compacta e hipoderme (Fig. 5A, 5B). A derme compacta é formada por feixes de fibras colágenas espessas orientadas paralelas à epiderme. Neste tecido, notam-se fibroblastos distribuídos entre as fibras colágenas (Fig. 5A, 5B). Essa orientação pôde ser observada ao MEV (Fig. 9B, 10A). Também ao MEV foram vistas fibras colágenas transversais (Fig. 10B) e microdobras que formam ondulações repetitivas por toda a superfície externa do peixe (8A).

Através do método da Picrosirius-polarização, pôde-se observar que a derme da jurupoca apresenta em maior quantidade fibras colágenas amarelo-avermelhadas muito birrefringentes, sendo que a quantidade de fibras vermelhas é menor em relação às amarelas (25A, 25B).

### 3.1.2.b – Pele Ventral

A pele da região ventral da jurupoca segue basicamente o padrão estrutural já descrito; no entanto, observou-se neste peixe que o estrato intermédio possui maior número de camadas celulares em relação à pele dorsal (Fig. 7A, 7B).

O muco liberado pelas células mucosas forma uma estreita faixa levemente basófila que cobre a superfície da epiderme. Nesta região, estão também presentes os neuromastos descritos para a pele dorsal (7A, 7B).

A constituição da derme desta região segue também o mesmo padrão já descrito para a pele dorsal (Fig. 7A, 7B).

Pelo método da Picrosirius-polarização, as fibras colágenas mais abundantes, nesta região, são as fibras de coloração amarelo-avermelhadas e pouquíssimas fibras vermelhas (Fig. 25A, 25B).

Ao MEV observam-se a disposição (fibras horizontais e verticais) e o arranjo das fibras colágenas (Fig. 10A, 10B).

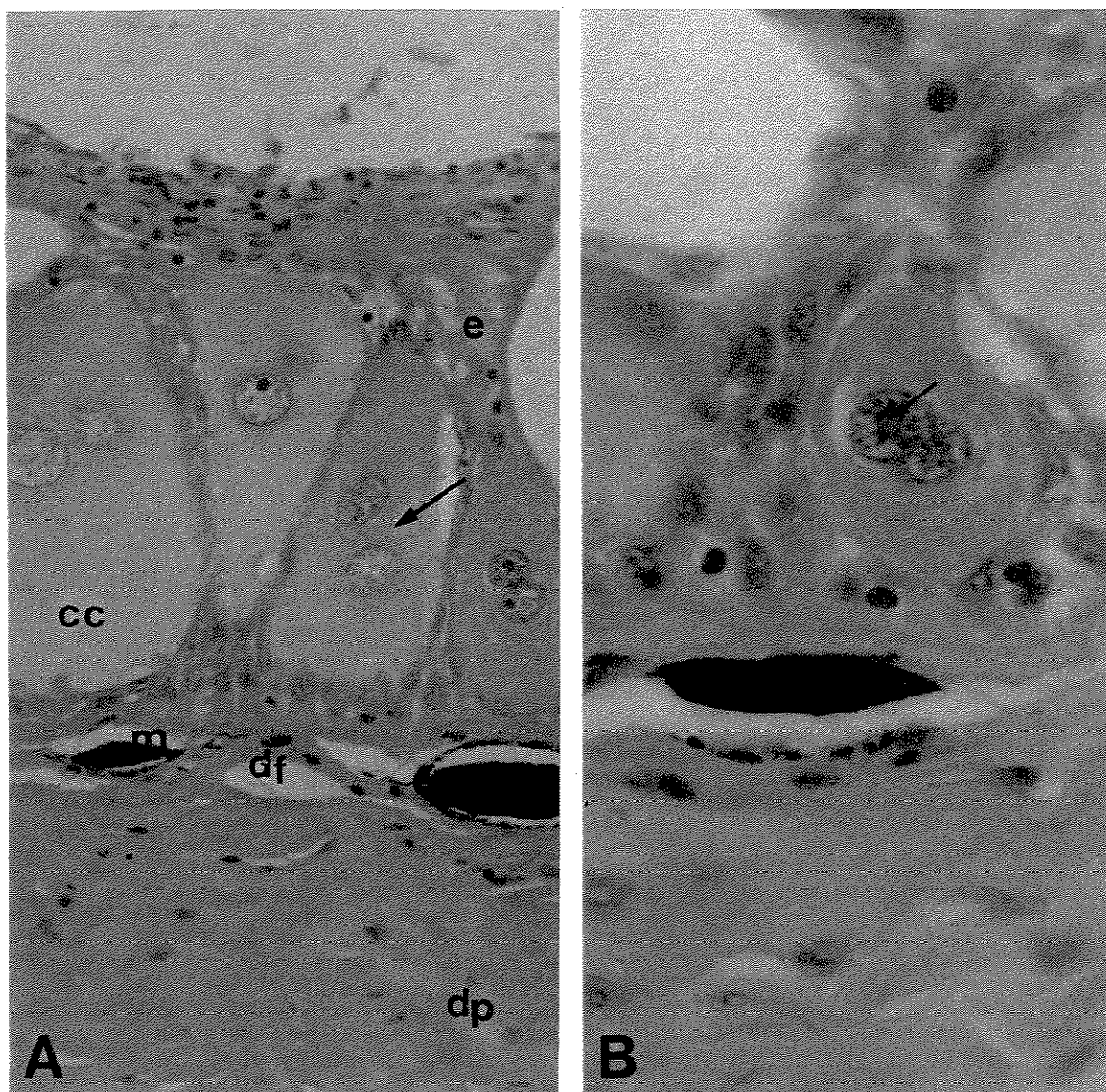


Fig. 5 – *Hemisorubim platyrhynchus* – pele dorsal

- (A) Observam-se a epiderme (e), a derme frouxa (df), derme profunda (dp). Notar os melanóforos (m) entre a epiderme e derme. Nesta foto as células claviformes (cc) ocupam quase toda a espessura da epiderme e algumas mostram-se binucleadas (seta). HE. Aumento:400x.
- (B) Foto mostrando em maior aumento uma célula claviforme binucleada com nucléolos evidentes e grandes (seta). HE. Aumento 1000x.

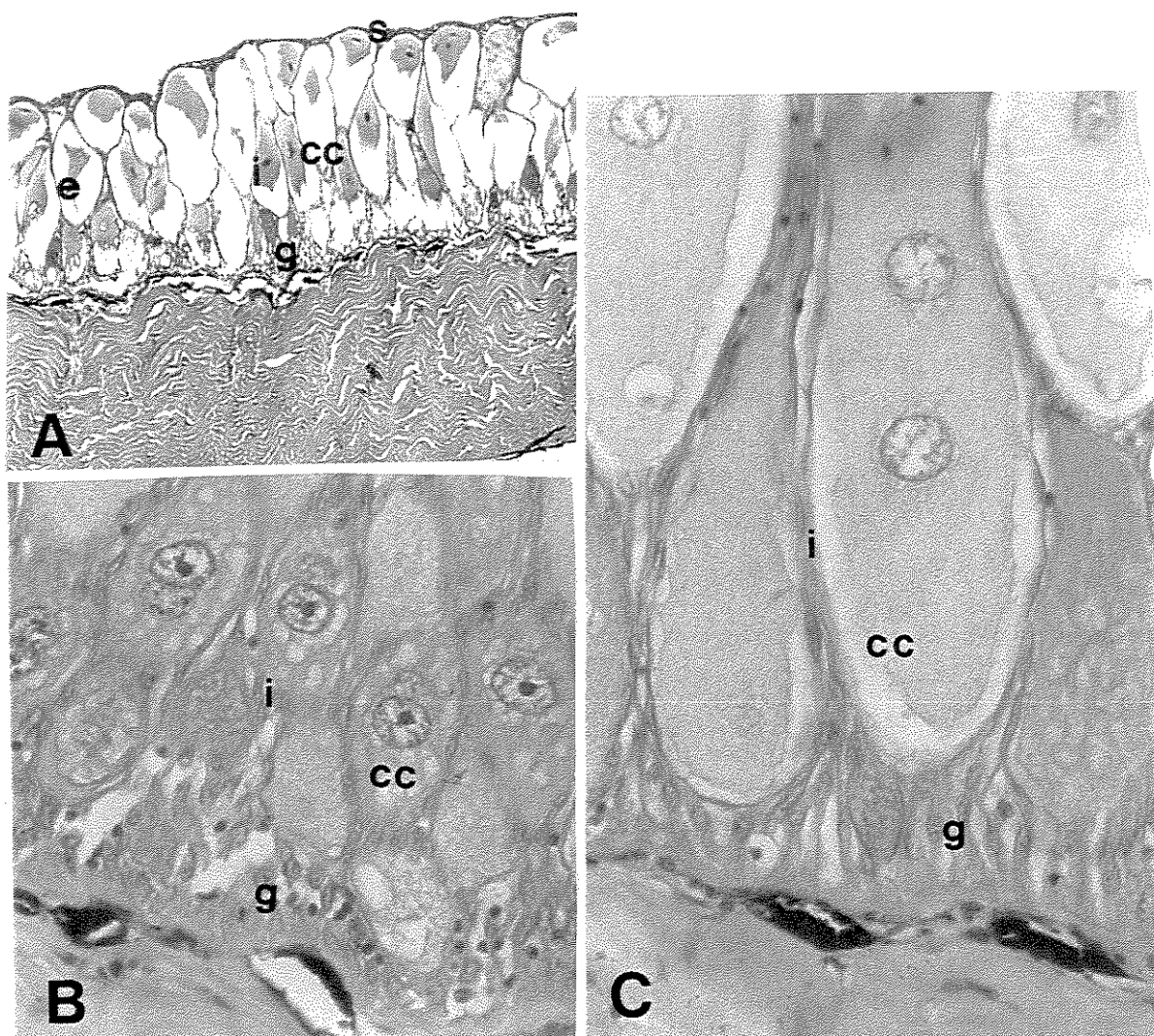


Fig. 6 – *Hemisorubim platyrhynchus* – pele dorsal

- (A) Nesta figura evidenciam-se a epiderme (e) constituída por um epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado dividido em três estratos: germinativo (g), intermédio (i) e superficial (s). Pode-se notar que o estrato intermédio (i) é composto por várias subcamadas de células claviformes (cc). HE. Aumento: 100x.
- (B) Detalhe dos estratos: germinativo e intermédio. HE. Aumento: 400x.
- (C) Trata-se de uma célula claviforme binucleada em maior aumento. HE. Aumento: 512x.

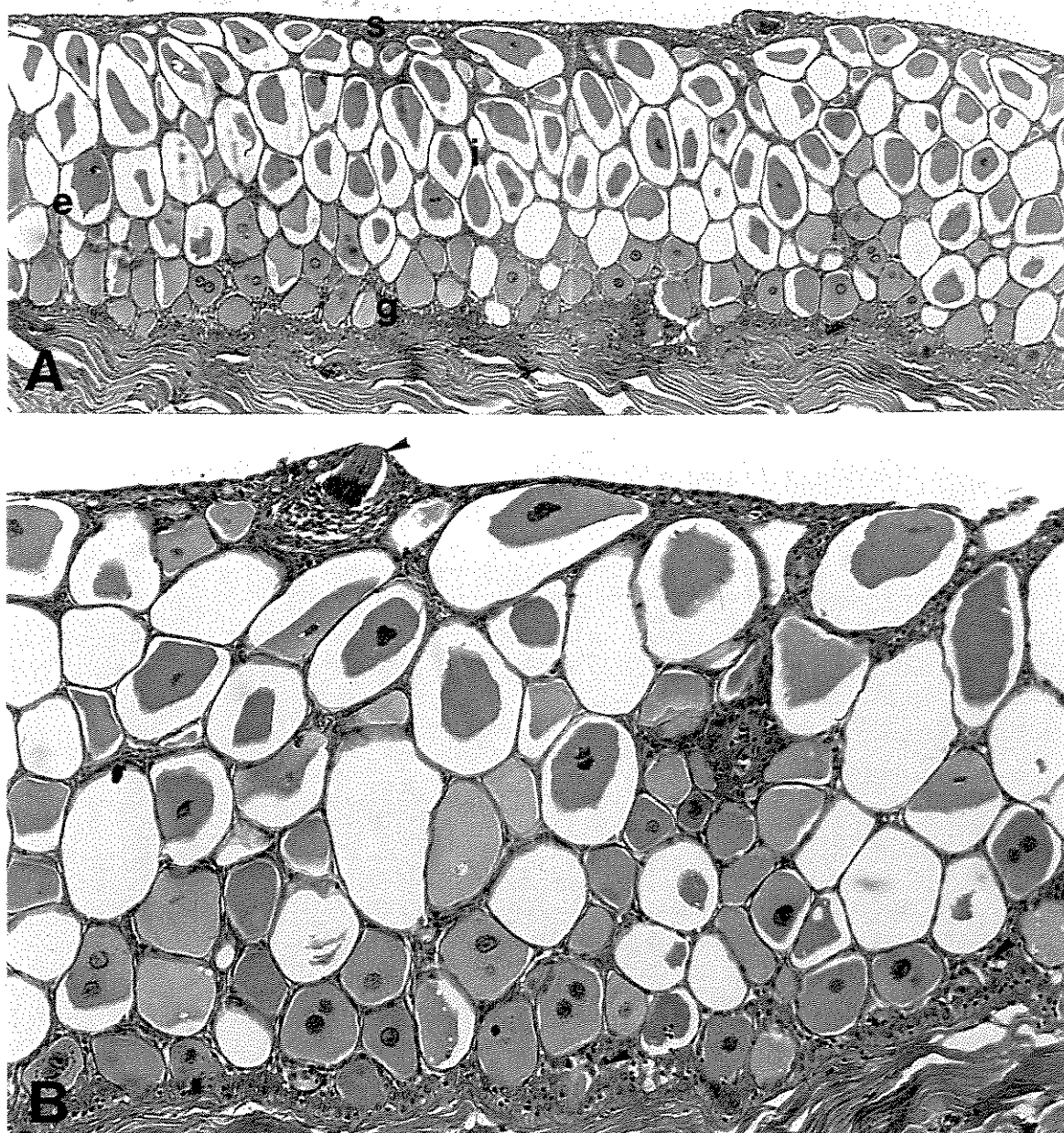


Fig. 7 – *Hemisorubim platyrhinchus* – pele ventral.

- (A) Observa-se a epiderme (e) constituída pelos estratos: germinativo (g), intermédio (i) e superficial (s). Pode-se notar que este epitélio apresenta várias subcamadas de células claviformes de tamanhos e formas diferentes. Notar que nesta região os melanóforos não foram observados entre a epiderme e derme. HE. Aumento: 100x.
- (B) A figura mostra em maior aumento a epiderme em maior aumento. Notar muitas células claviformes binucleadas e linfócitos (setas) no estrato germinativo e um neuromasto apical (cabeça de seta). HE. Aumento: 200x.

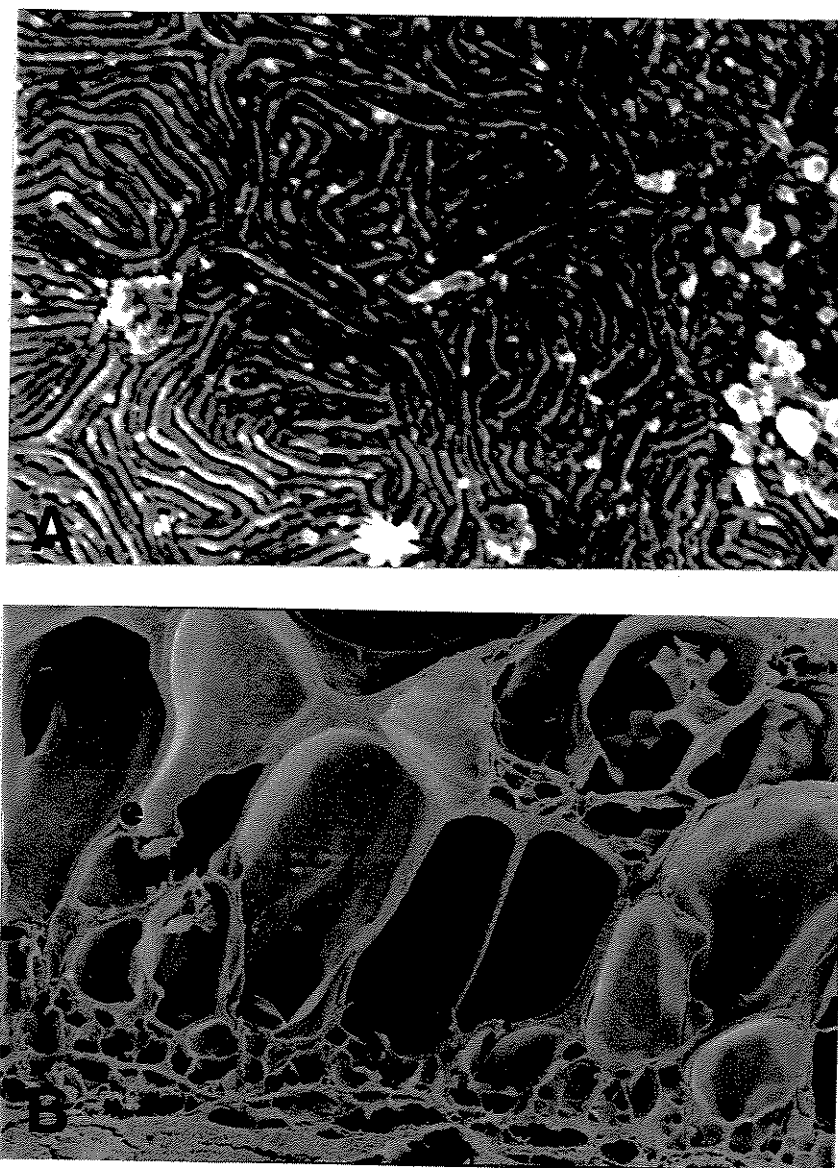


Fig. 8 - *Hemisorubim platyrhinchus* - pele dorsal.- Microscopia eletrônica de varredura (MEV).

- (A) Observar as células epiteliais (queratinócitos) do estrato superficial da epiderme, mostrando um padrão de microdobras (setas). Notar que as células epiteliais são contornadas por microdobras contínuas. (setas). 500x.
- (B) Detalhe da epiderme (e), mostrando o estrato germinativo (g) com células claviformes (cc) em vários tamanhos e formas. 430x.

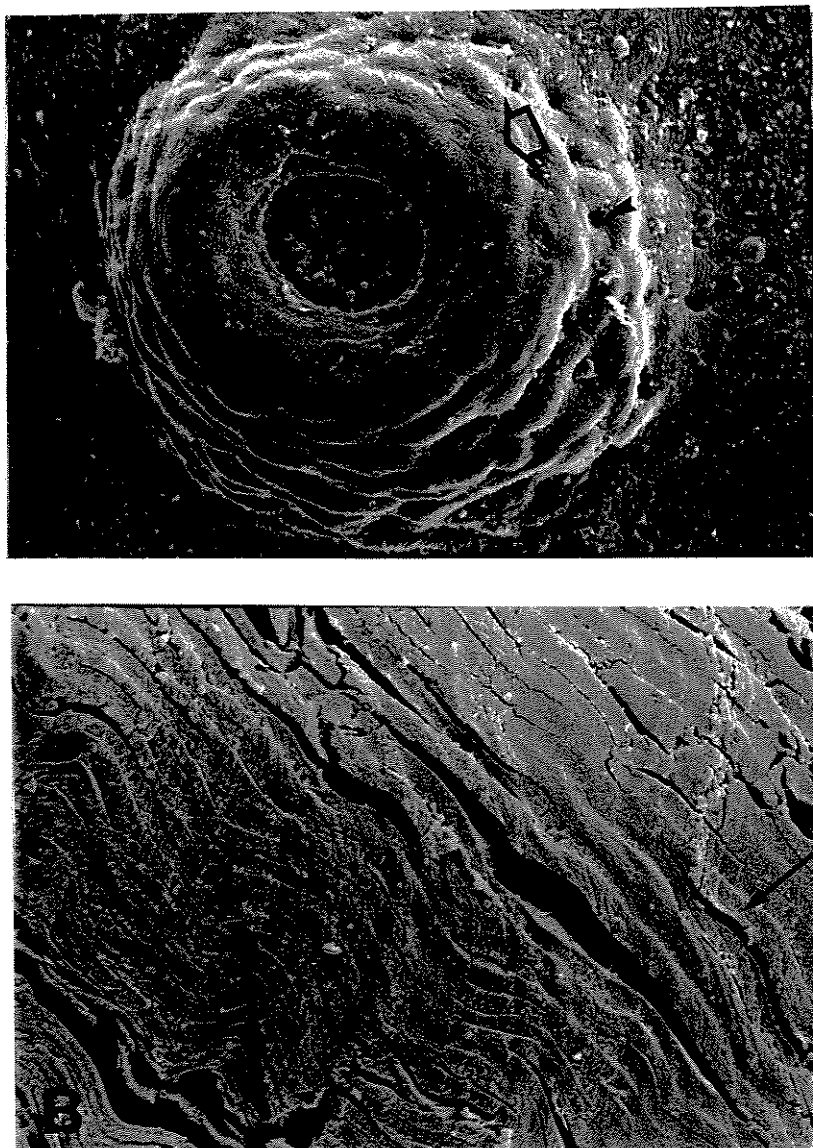


Fig. 9 – *Hemisorubim platyrhinchus* – pele dorsal – Microscopia eletrônica de varredura (MEV).

- (A) Observar um neuromasto superficial (seta) e poros das células mucosas (cabeça de seta). Notar ao redor da estrutura sensorial, microdobras das células epiteliais (cabeça de seta). 1,200x.
- (B) Detalhe das fibras colágenas da derme compacta (seta). Notar as fibras colágenas onduladas e paralelas umas às outras. 750x.

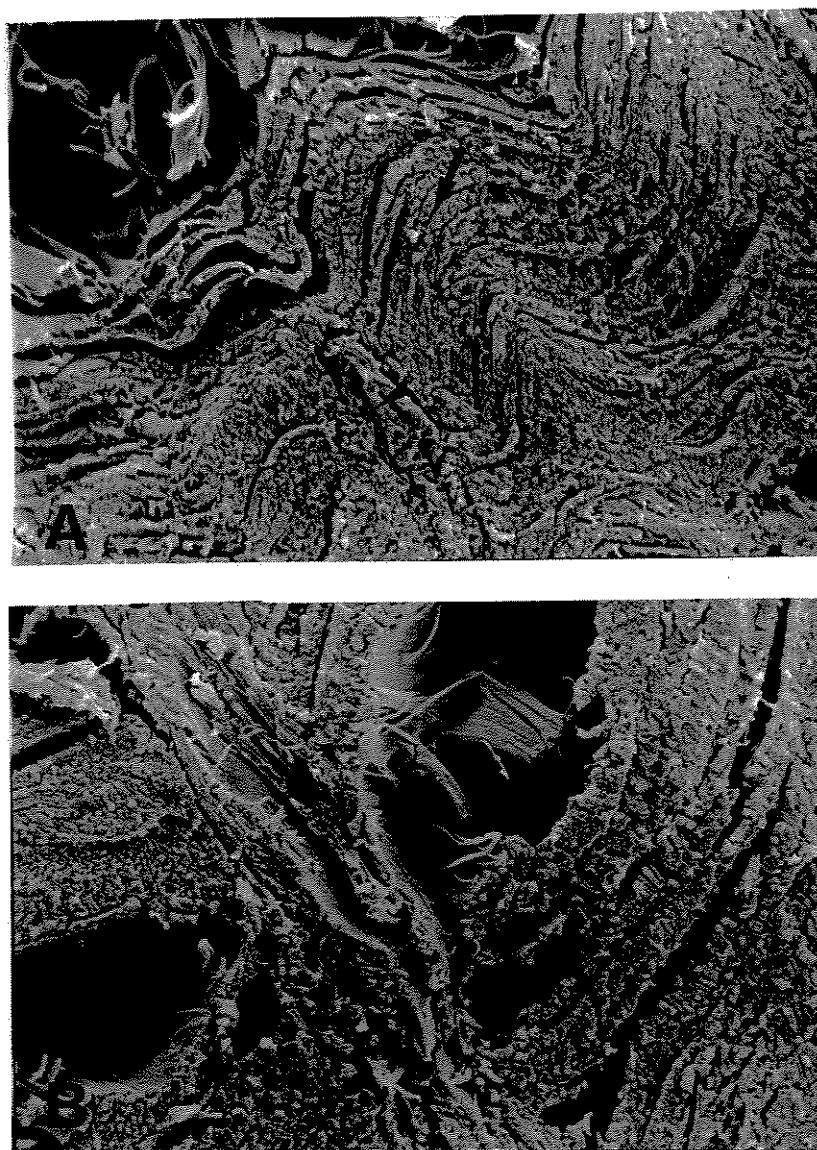


Fig. 10 - (*Hemisorubim platyrhinchus*) - pele ventral.- Microscopia eletrônica de varredura (MEV).

- (A) Observar a disposição, o arranjo e a orientação das fibras colágenas paralelas entre si (seta). Notar fibras colágenas verticais (cabeça de seta). 850x.
- (B) Um detalhe em maior aumento das fibras colágenas verticais (seta cheia). 1800x.

### 3.1.3 – Análise Histoquímica

Com o objetivo de se obter um perfil histoquímico visando à melhor compreensão da estrutura e da fisiologia celular da pele das espécies em estudo, foram realizadas reações histoquímicas para se detectar mucossubstâncias neutras, ácidas e proteínas.

Os resultados obtidos mostraram que a reação do PAS+ (específica para carboidratos neutros) foi fortemente positiva para as células mucosas presentes nas regiões dorsal e ventral da epiderme das duas espécies estudadas (Fig. 11A, 11B, 12-C, 16A, 16B, 17B, 17C, 18A-C). Para o PAS, fez-se a contra prova com fungamil (amilase), que se comporta como uma enzima que digere carboidrato puro (glicogênio); após esse tratamento as lâminas foram submetidas ao PAS, a reação continuou positiva, indicando a presença de carboidrato neutro ligado a um radical protéico, isto é, glicoproteína (17A).

Com relação ao alcian blue (AB+), observou-se que as células mucosas das regiões dorsal e ventral da jurupoca mostram resultado positivo tanto em pH 2,5 como em pH 0,5, indicando assim presença de carboidratos ácidos (carboxilados e sulfatados) em seu produto de secreção (20A-B, 21A-B, 22C). No mandi, as células mucosas foram negativas para a reação do azul de alcian nos dois diferentes pH.

As células epiteliais da camada superficial das duas regiões da pele da jurupoca também mostraram positividade à reação do alcian blue em pH 2,5 e em pH 0,5, indicando a presença no citoplasma dessas células de mucossubstâncias ácidas, carboxiladas e sulfatadas (Fig. 19A, 19B; 22A-B).

O teste utilizado para identificar proteínas, nas células da epiderme, mostrou moderada positividade para as células claviformes da jurupoca, tanto na região dorsal como na ventral . No entanto, as células claviformes das regiões dorsal e ventral do mandi mostraram reação a proteínas (Fig. 23A-B, 24A-B).

Através do uso do método de coloração pelo Picrossírius-hematoxilina, foi possível observar aspectos morfológicos da derme compacta, evidenciando não só arranjo como também a orientação das fibras colágenas. Esse método quando acoplado à polarização, mostrou que o colágeno da derme compacta apresenta-se como estruturas fibrilares de cor avermelhada e fortemente birrefringente (Fig. 14A-B, 15A-B, 25A-B, 26B-C).

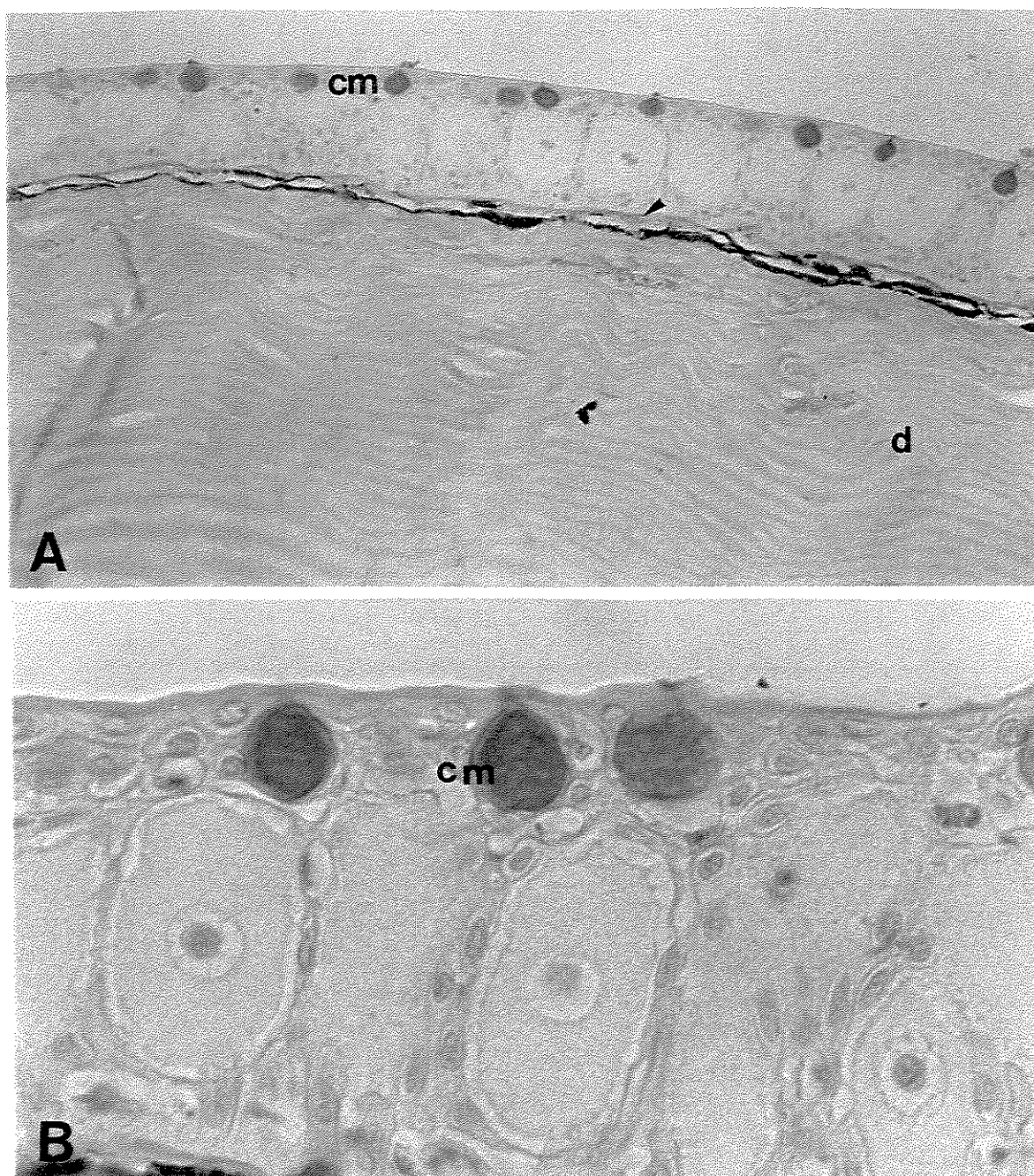


Fig. 11 – *Pimelodus maculatus* - Pele dorsal.

- (A) Observar as células mucosas (cm) no estrato superficial mostrando reação positiva para PAS. Notar, também, reação fraca na lâmina basal (cabeça de seta) e derme (d). Aumento: 100x
- (B) A figura anterior, em maior aumento. Observar que as células mucosas (cm) apresentam granulações PAS positivo no citoplasma. Aumento: 1024x.

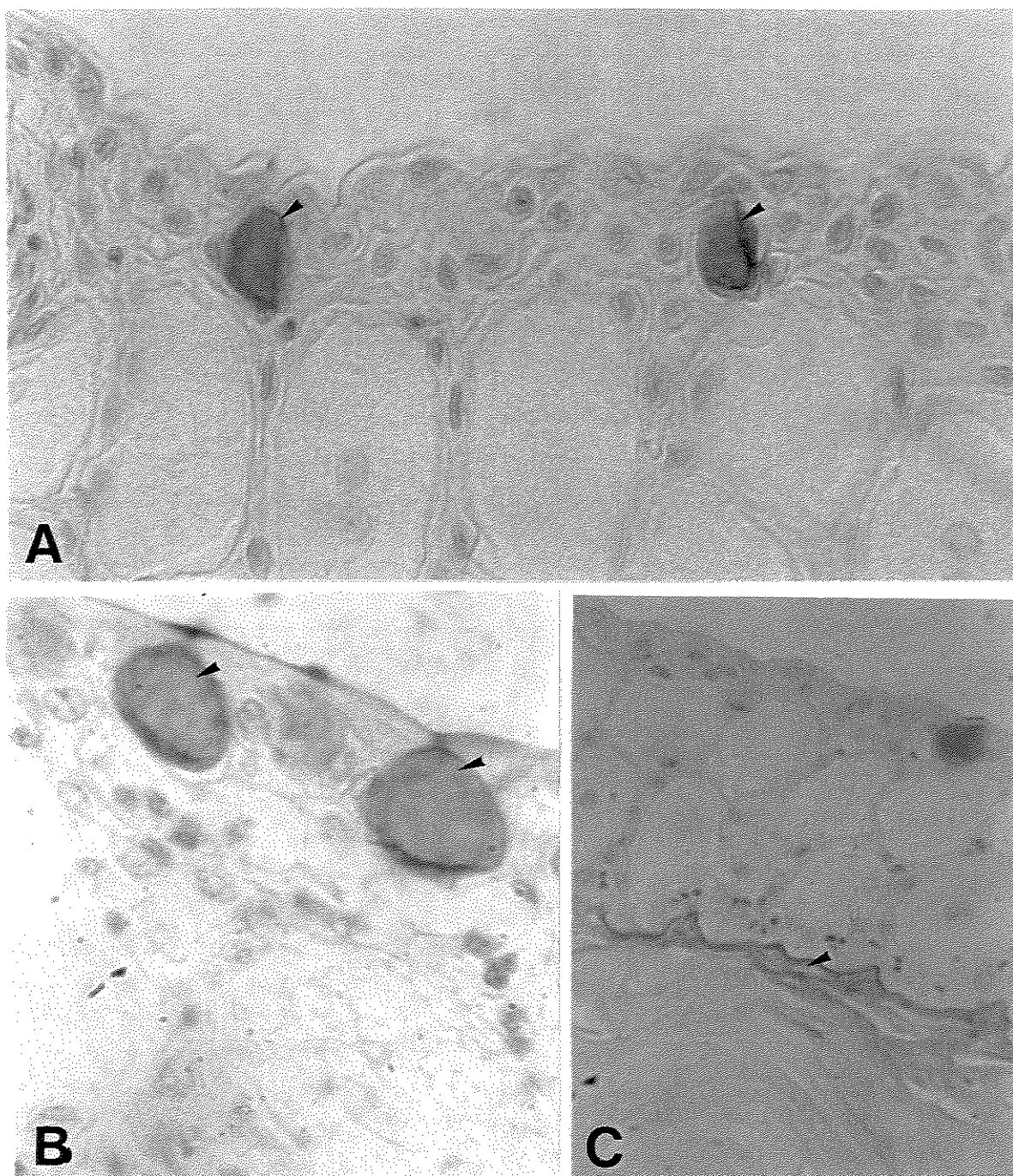


Fig. 12 – *Pimelodus maculatus* – Pele ventral.

- (A) Nesta foto evidenciam-se células mucosas com reação positiva para o PAS (cabeça de seta). Aumento: 512x.
- (B) Um detalhe da figura anterior, em maior aumento das células mucosas (cabeça de seta) Aumento: 1024x.
- (C) Notar a reação moderadamente positiva para a membrana basal (cabeça de seta). Aumento: 400x.

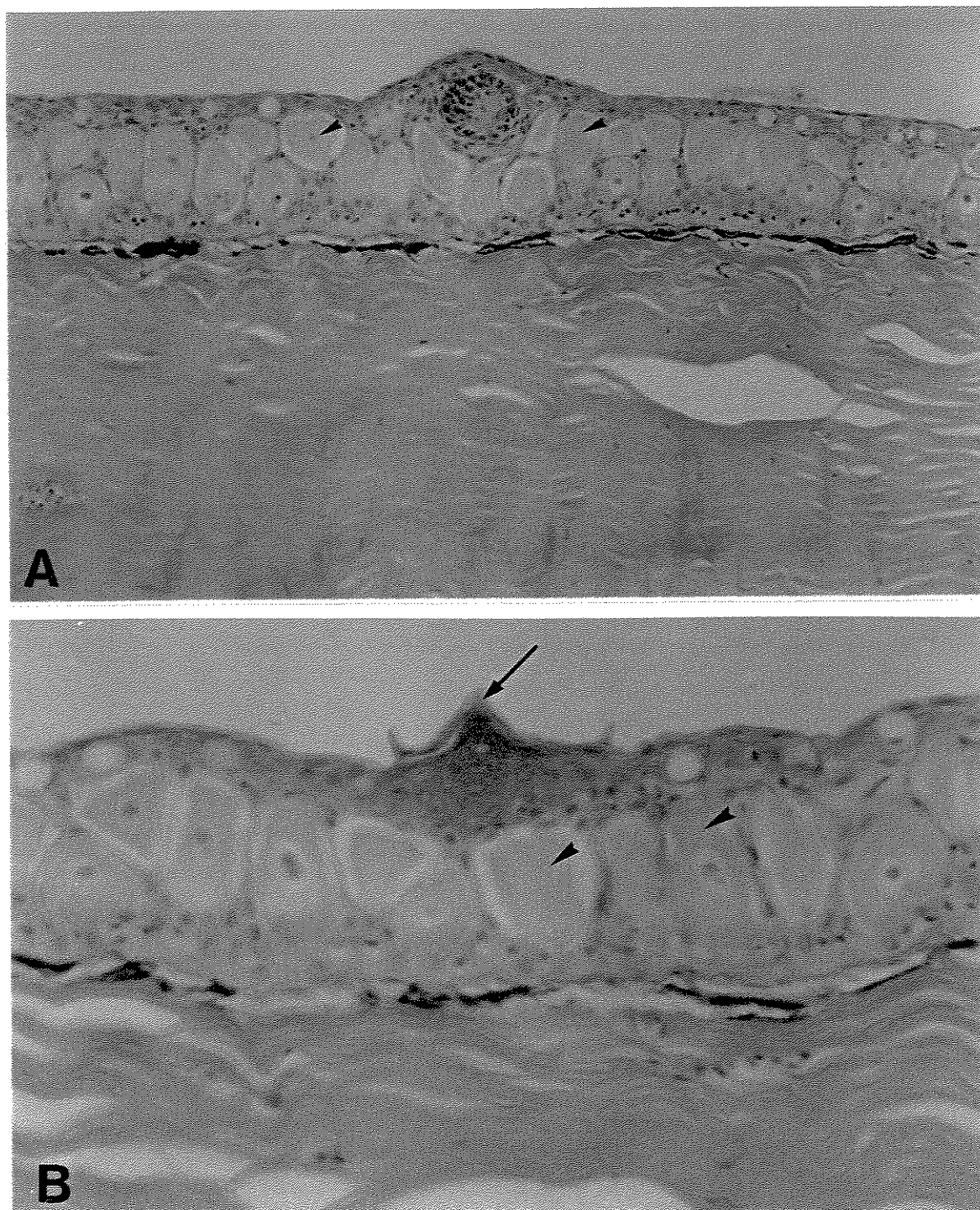


Fig. 13 – *Pimelodus maculatus* – Pele dorsal.

- (A) Observa-se reação moderadamente positiva para ninhidrina-Schiff (proteínas) nas células claviformes (cabeças de setas) do estrato intermédio e também para a lâmina basal (cabeças de setas).e derme. Aumento: 100x
- (B) Notar o detalhe da espícula córnea fortemente positiva. Notar as células claviformes (cabeças de setas). Aumento: 400x.

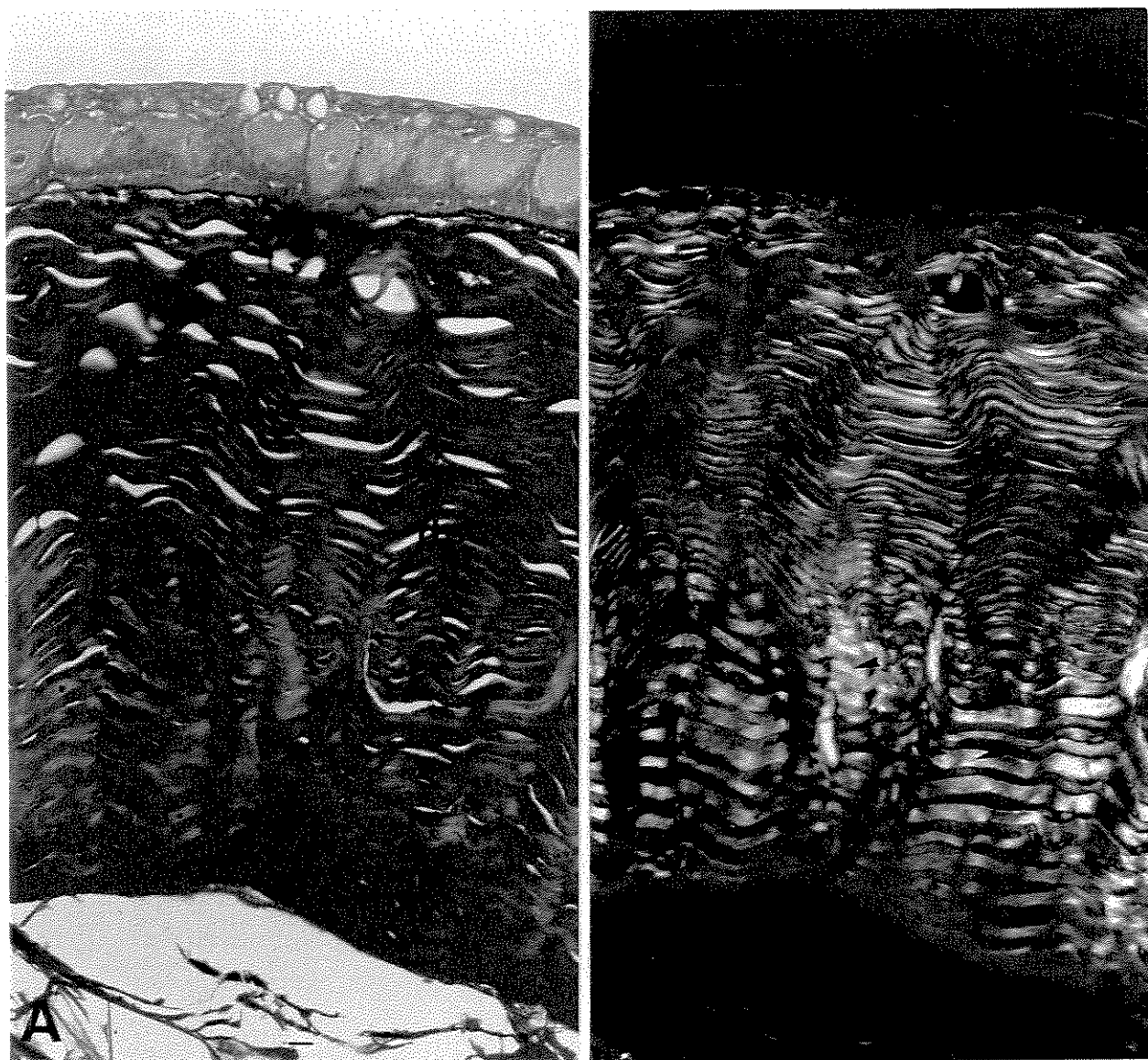


Fig. 14 – *Pimelodus maculatus* - Pele dorsal:

(A) Observa-se a histoarquitetura das fibras colágenas da derme compacta (dc) mostrando o arranjo e a orientação das mesmas (cabeça de seta). Picrosirius-hematoxilina. Aumento: 256x.

(B) O mesmo corte em luz polarizada, evidenciando a birrefringência das fibras colágenas de cor vermelho e esverdeada (cabeça de seta). Picrosirius-polarização. Aumento: 256x.

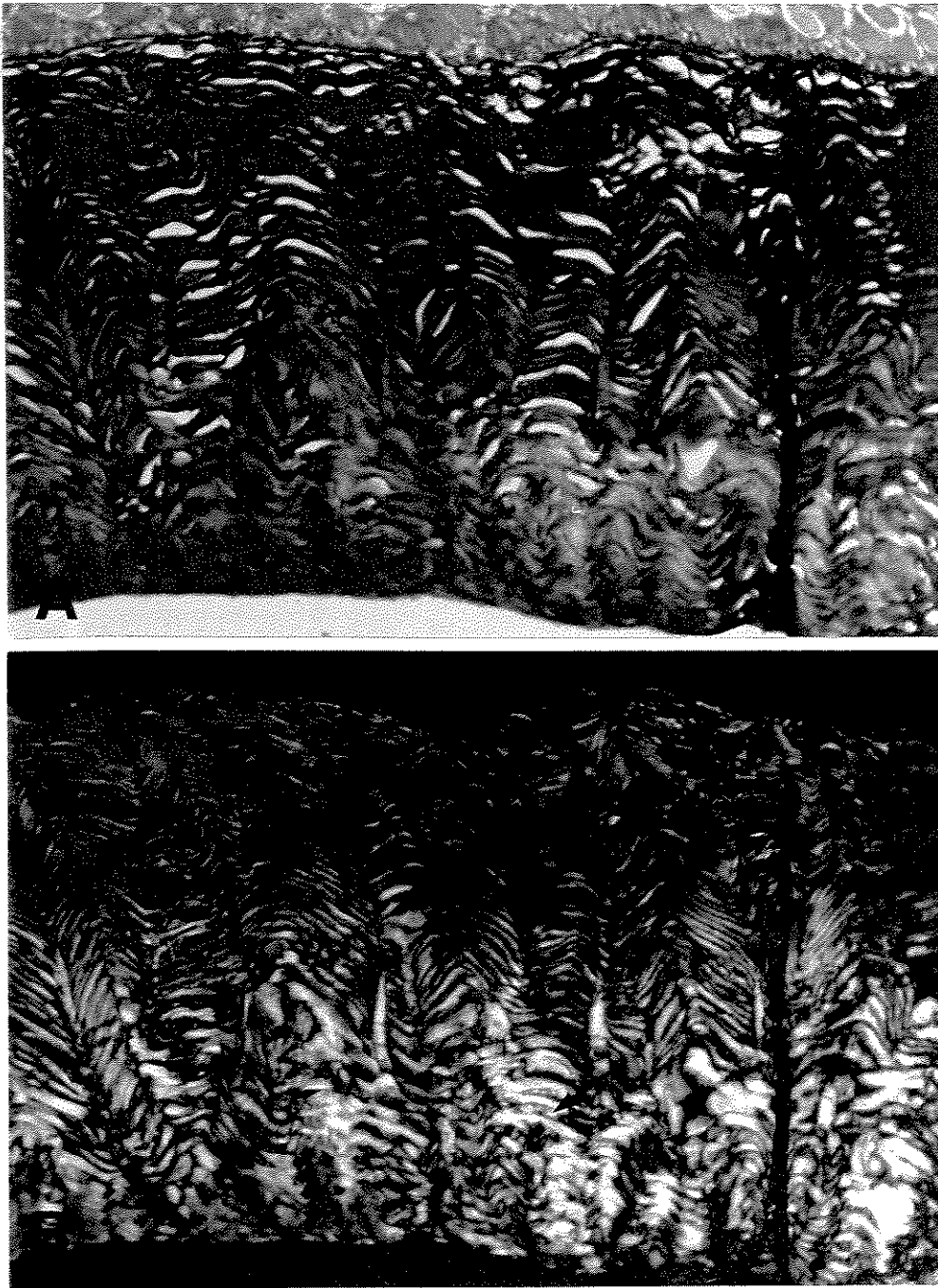


Fig. 15 – *Pimelodus maculatus* - Pele ventral:

- (A) Notar o arranjo das fibras colágenas da derme compacta (cabeça de seta). Picrosirius-hematoxilina. Aumento: 256x
- (B) Observar o mesmo arranjo das fibras colágenas (horizontais e verticais) em luz polarizada (cabeça de seta). Notar na derme compacta próxima à hipoderme, fibras colágenas de cor esverdeada (setas). Picrosirius-polarização. Aumento: 256x.

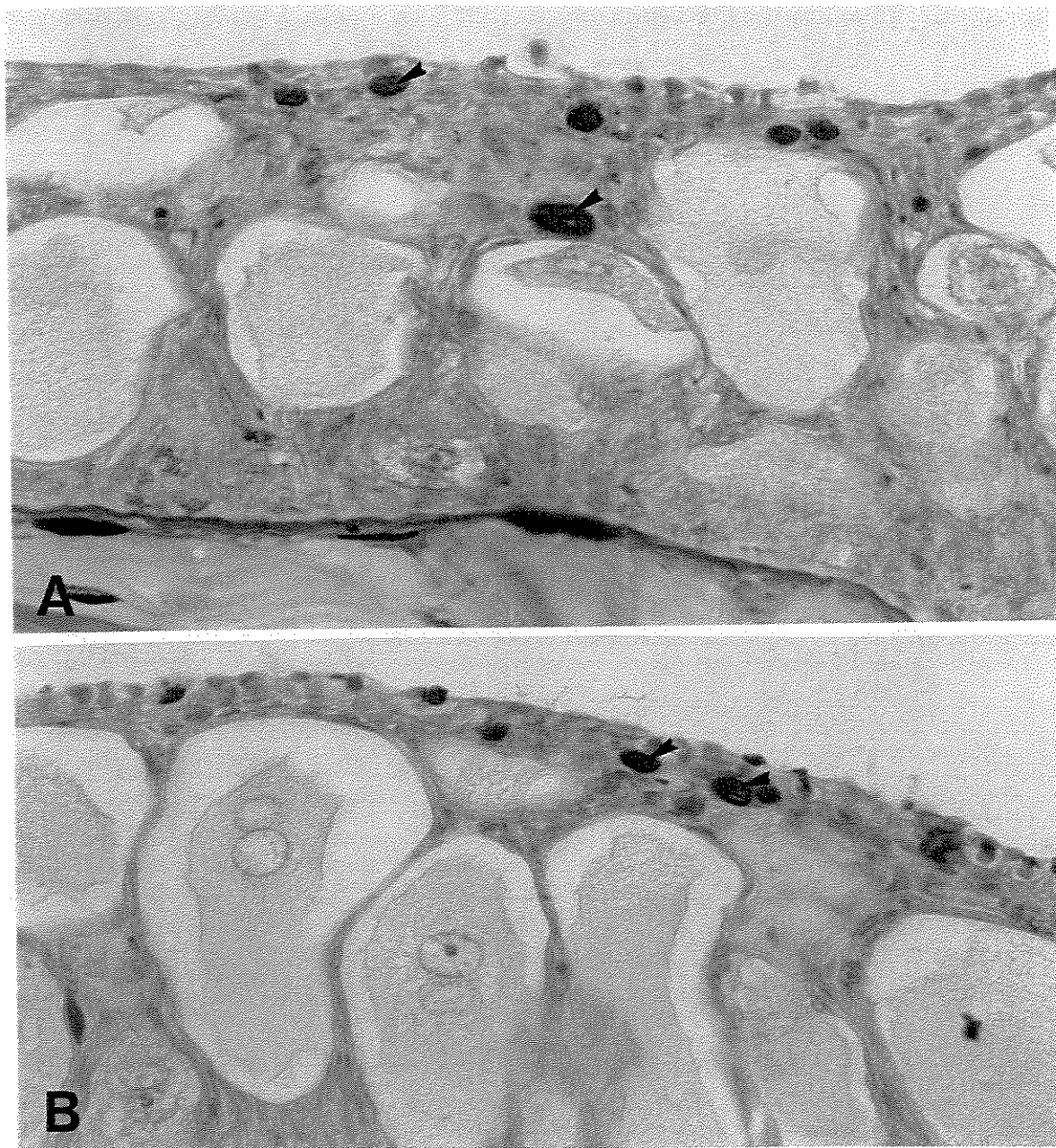


Fig. 16 - *Hemisorubim platyrhinchus* - pele dorsal.

- (A) Notar no estrato superficial células mucosas (cabeças de setas) PAS positivas (carboidrato neutro). Aumento: 1024x.
- (B) As células mucosas, neste detalhe, da figura anterior em maior aumento. PAS. (cabeças de setas) Aumento: 1024x.

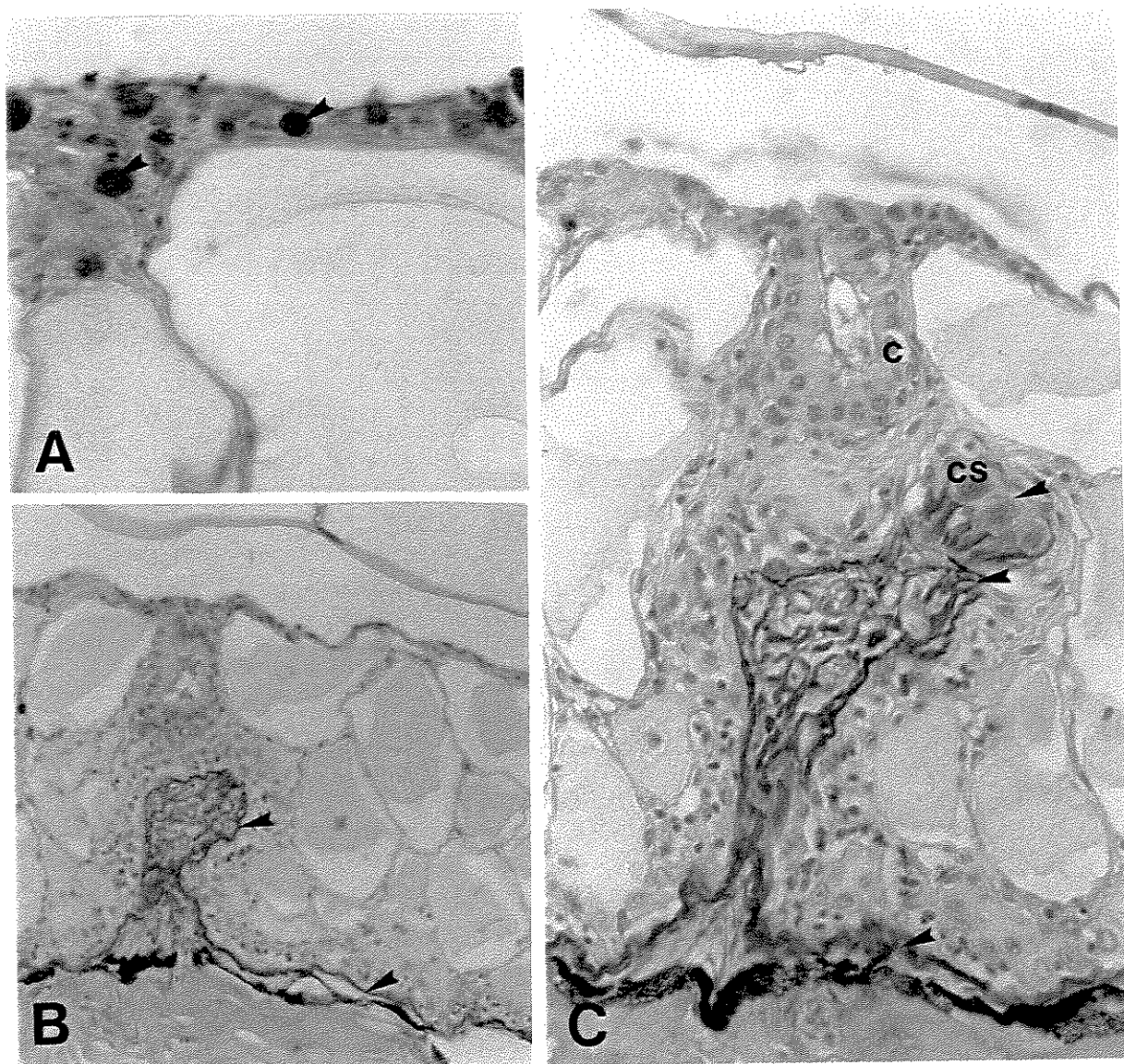


Fig. 17 - *Hemisorubim platyrhinchus* - pele dorsal.

- (A) Observar a PAS positividade das células mucosas após diastase (cabeças de setas). Aumento: 512x.
- (B) Observar lâmina basal PAS positiva (cabeças de setas). Aumento: 128x.
- (C) Nesta foto em maior aumento pode-se observar a lâmina basal (cabeça de seta). Nota-se mais acima dessa membrana um órgão sensorial (órgão ampolar) (cabeça de seta) mostrando as células sensoriais (cs) e o canal (c). PAS. Aumento: 512x.

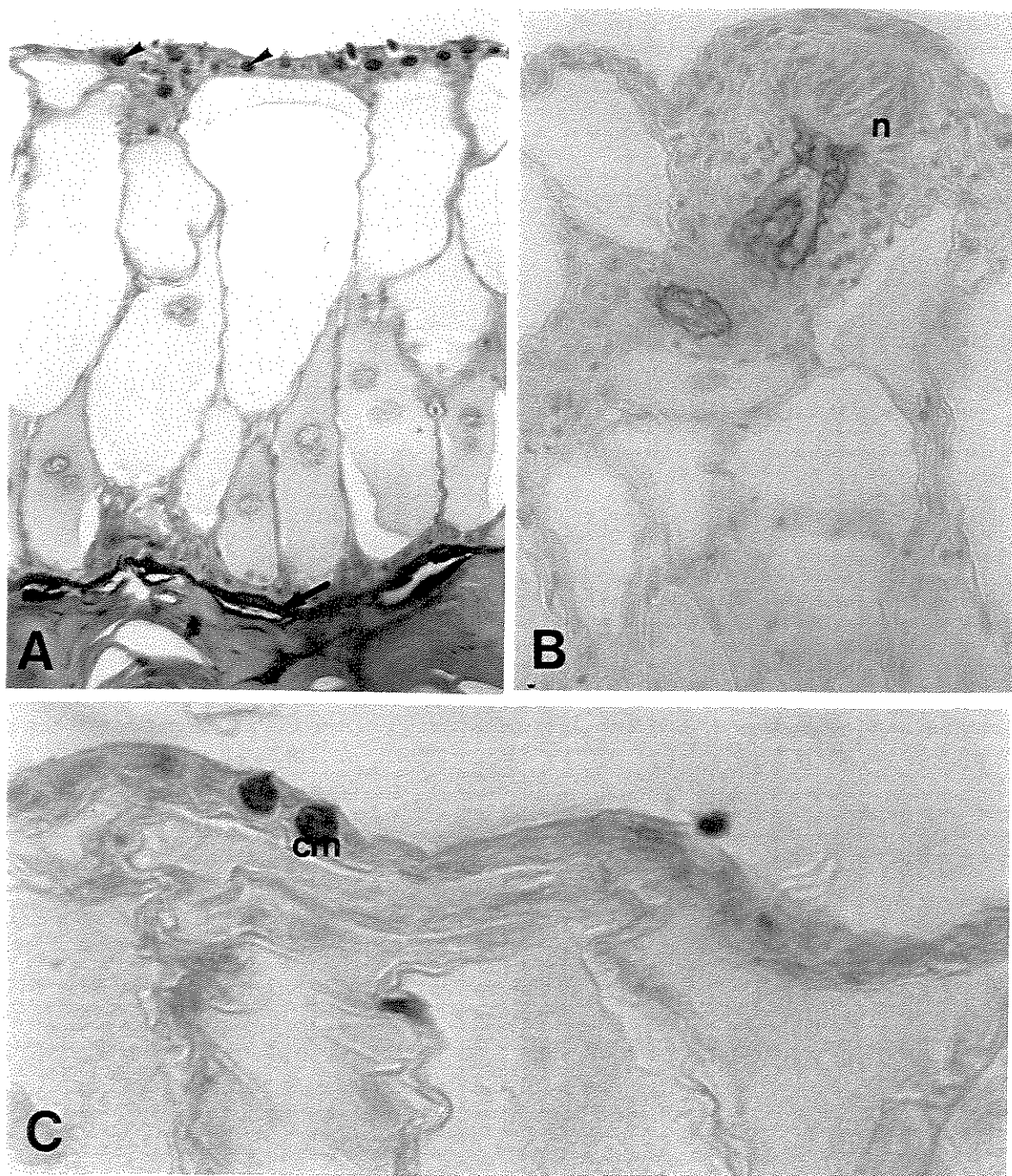


Fig. 18 - *Hemisorubim platyrhinchus* - pele ventral.

- (A) Observar a PAS positividade das células mucosas (cabeças de setas) e da lâmina basal (seta). Aumento: 512x.
- (B) Detalhe de um neuromasto (n). PAS. Aumento: 256x.
- (C) Nesta foto em maior aumento pode-se observar células mucosas (cm) PAS positivas. Aumento: 1024x

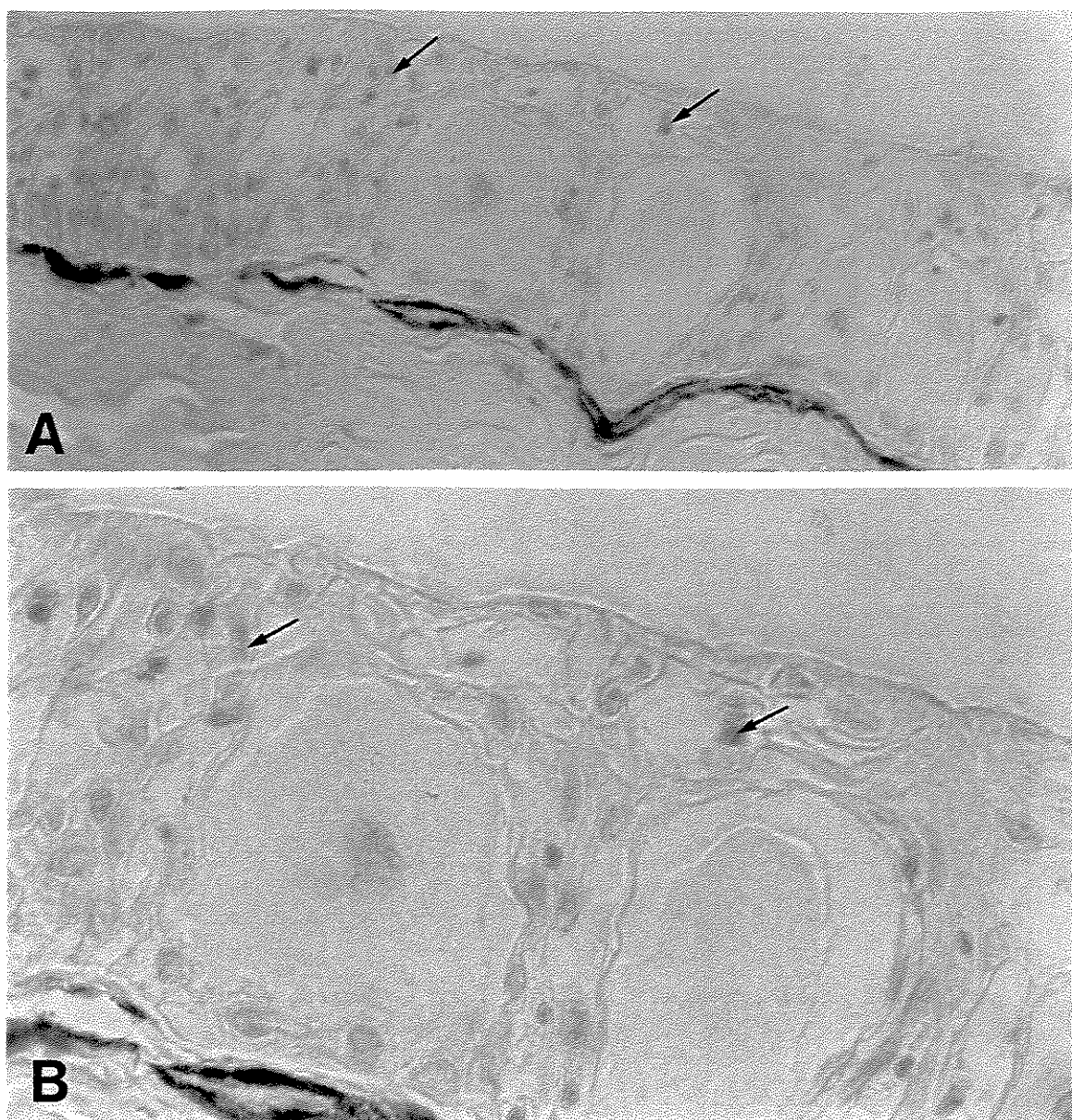


Fig. 19 - (*Hemisorubim platyrhinchus*) - pele dorsal.

- (A) Observar no estrato intermédio e superficial, células epiteliais (setas) positivas para carboidratos ácidos sulfatados. Alcian blue (AB) pH 0,5. Aumento: 256x.
- (B) Detalhe da figura anterior em maior aumento. Observar as células epiteliais (setas). AB - pH 0,5. Aumento: 1024x.

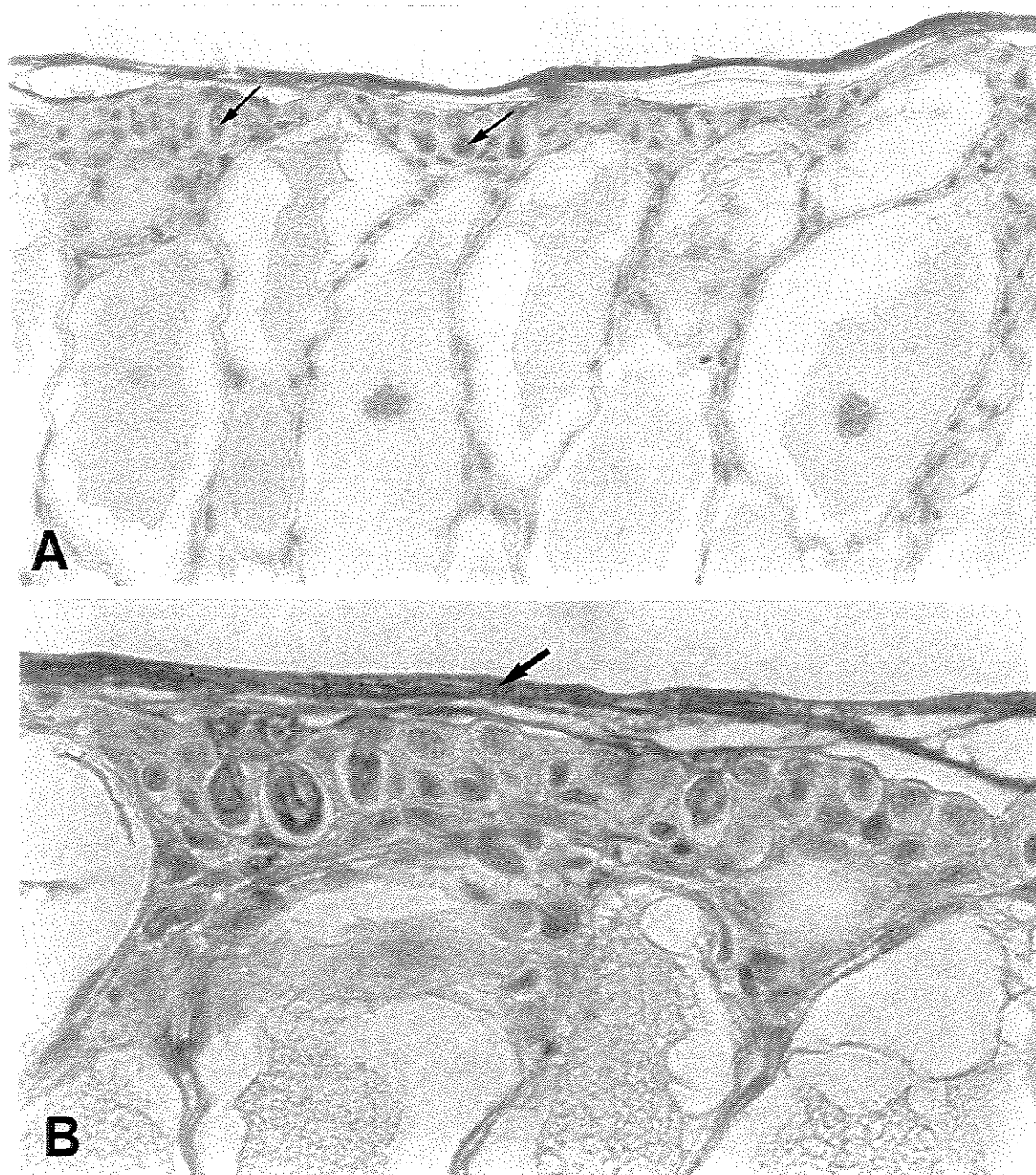


Fig. 20 - (*Hemisorubim platyrhinchus*) - pele ventral.

- (A) Observar no estrato superficial, células mucosas (setas) positivas para carboidratos ácidos carboxilados e/ou sulfatados. Alcian blue (AB) pH 2,5. Aumento: 512x.
- (B) Detalhe da figura anterior em maior aumento. Notar a cutícula protetora na camada superficial (setas). AB - pH 2,5. Aumento: 1024x.

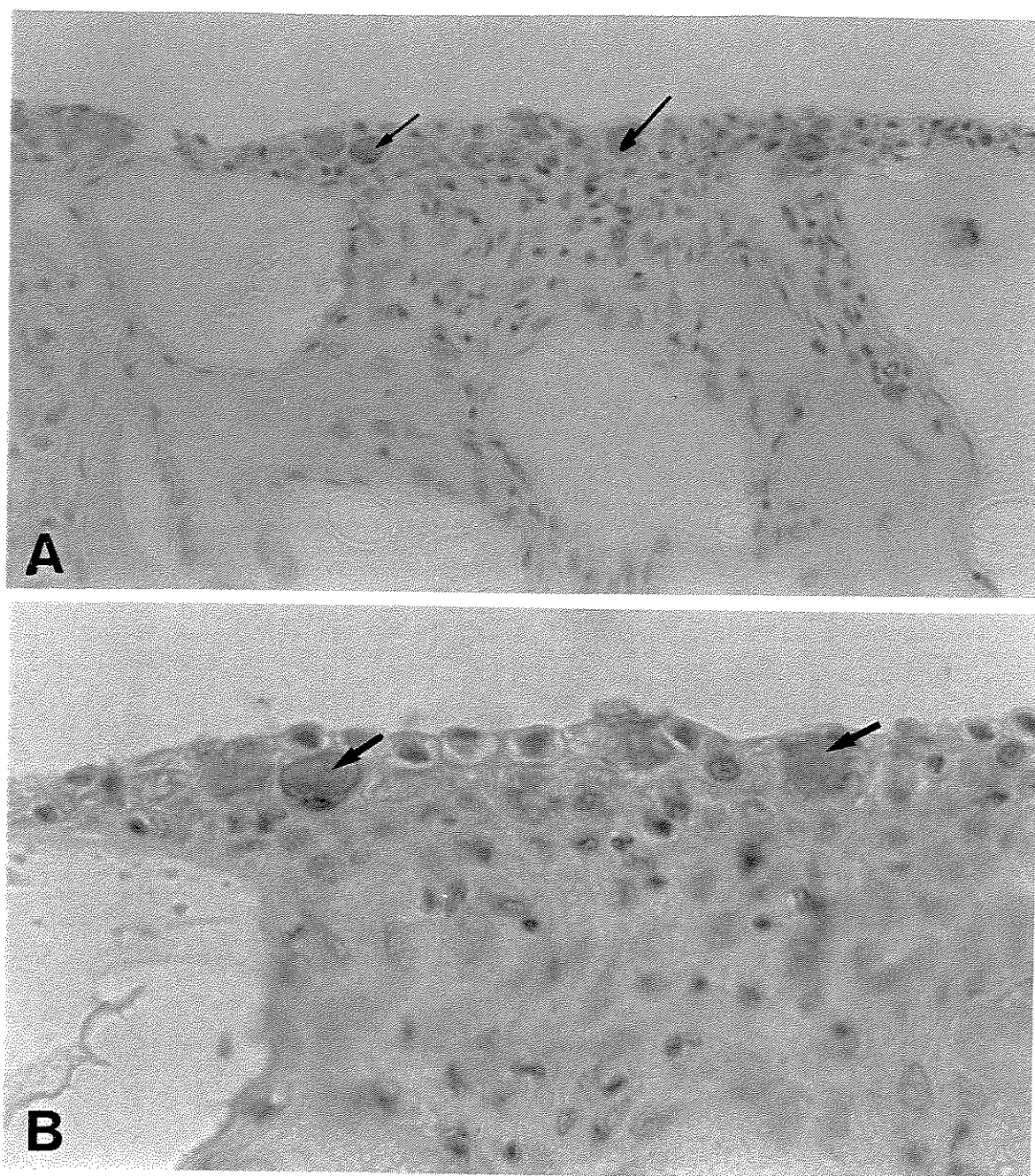


Fig. 21 - (*Hemisorubim platyrhinchus*) - pele dorsal.

- (A) Observar no estrato superficial, células mucosas (setas) positivas para carboidratos ácidos carboxilados e/ou sulfatados. Alcian blue (AB) pH 2,5. Aumento: 512x.
- (B) Detalhe da figura anterior em maior aumento. AB - pH 2,5. Aumento: 1024x.

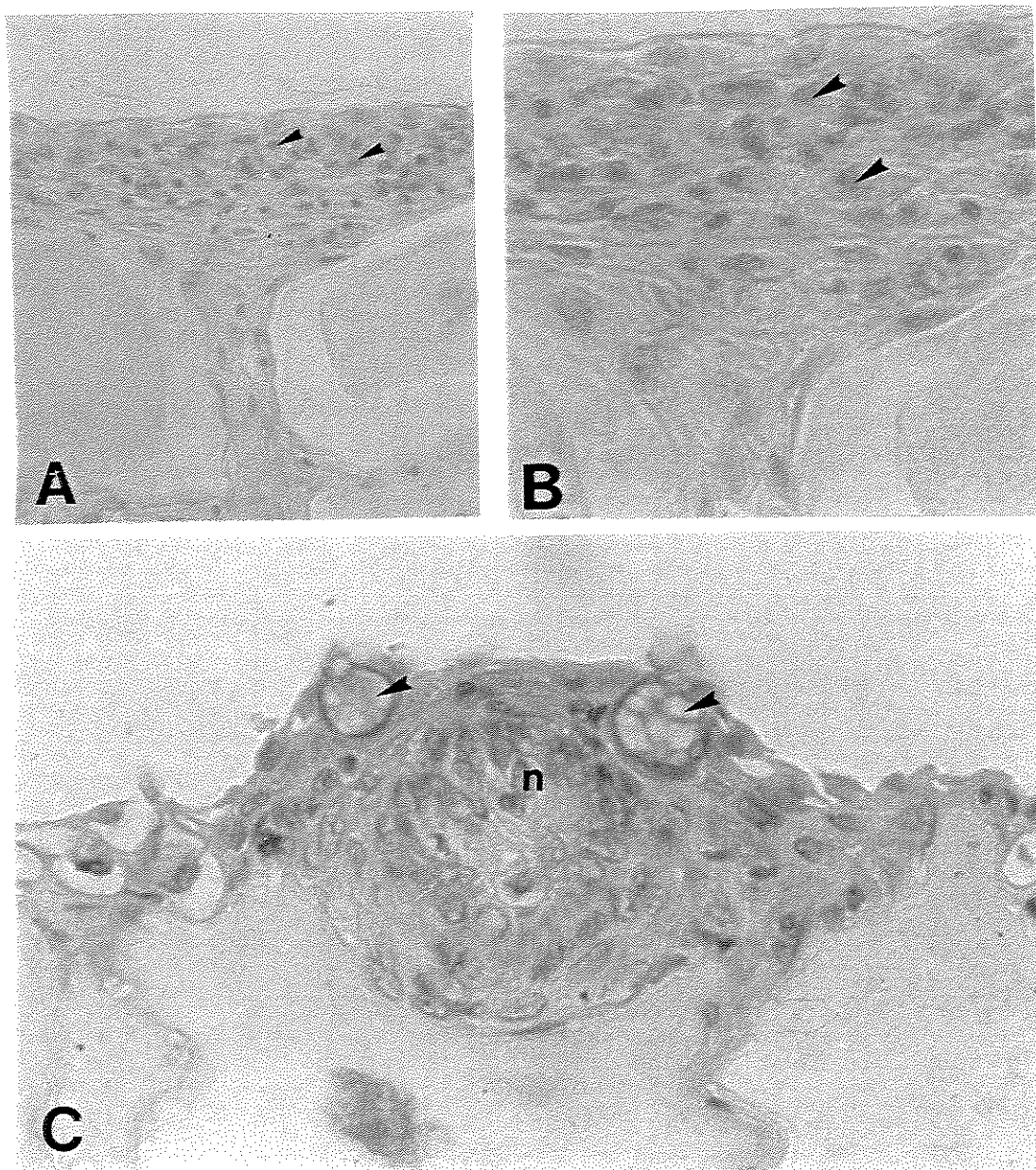


Fig. 22 - (*Hemisorubim platyrhinchus*) - pele ventral.

- (A) Observar no estrato superficial, células epiteliais (cabeças de setas) positivas para carboidratos ácidos sulfatados. Alcian blue (AB) pH 0,5. Aumento: 400x.
- (B) Trata-se da figura anterior em maior aumento (cabeças de setas). AB pH 0,5. Aumento: 1024x.
- (C) Detalhe em maior aumento. Observar um neuromasto (n) com duas células mucosas (cabeças de setas). AB - pH 0,5. Aumento: 1024x.

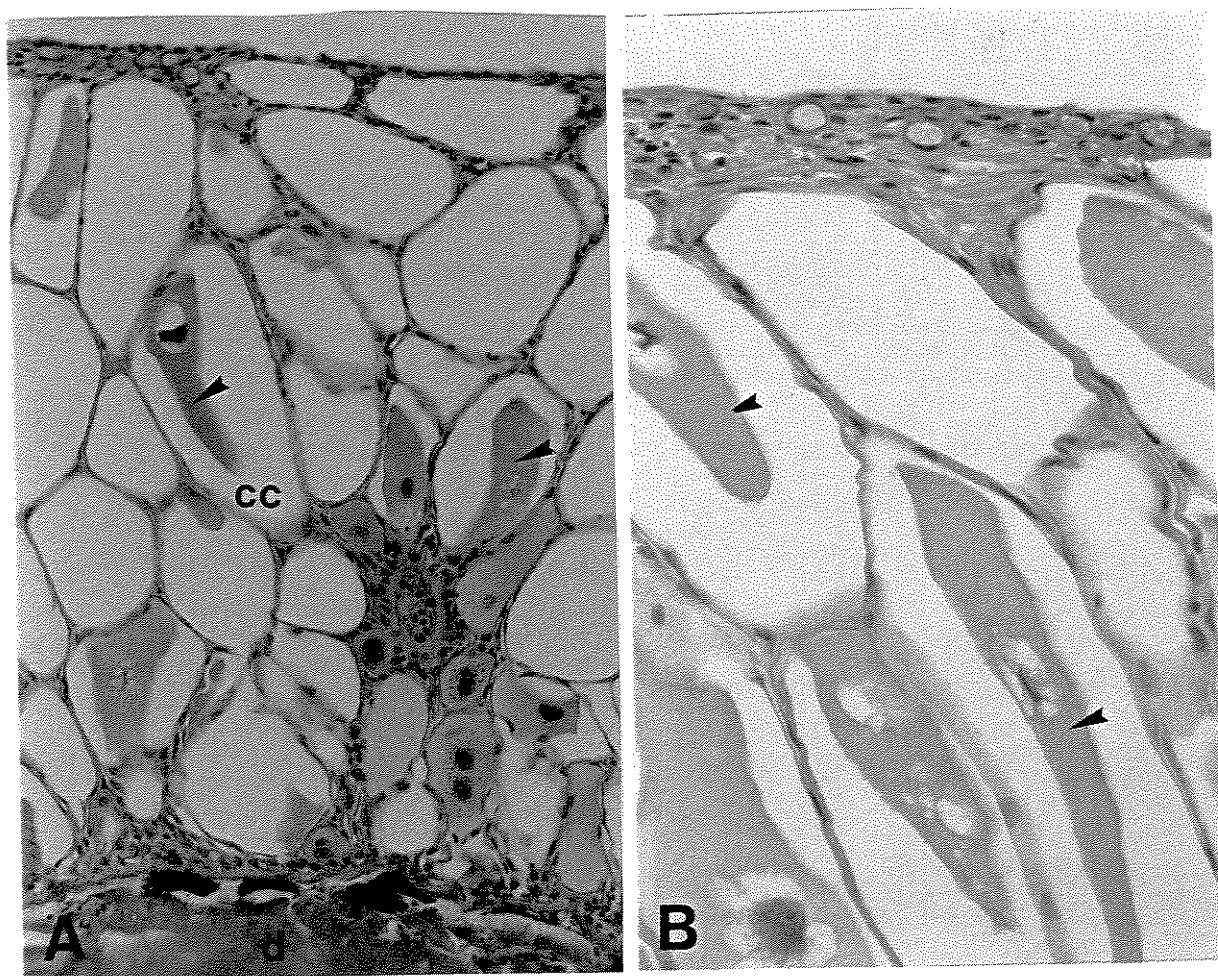


Fig. 23 - *Hemisorubim platyrhincus* - pele dorsal.

- (A) Observar as células claviformes (cc) com reação moderadamente positiva (cabeças de setas) para ninhidrina -Schiff (proteínas). Esta mesma foto mostra a positividade para a derme (d) subjacente. Aumento: 400x.
- (B) A mesma figura em maior aumento (cabeças de setas). Ninhidrina-Schiff. Aumento: 512x.

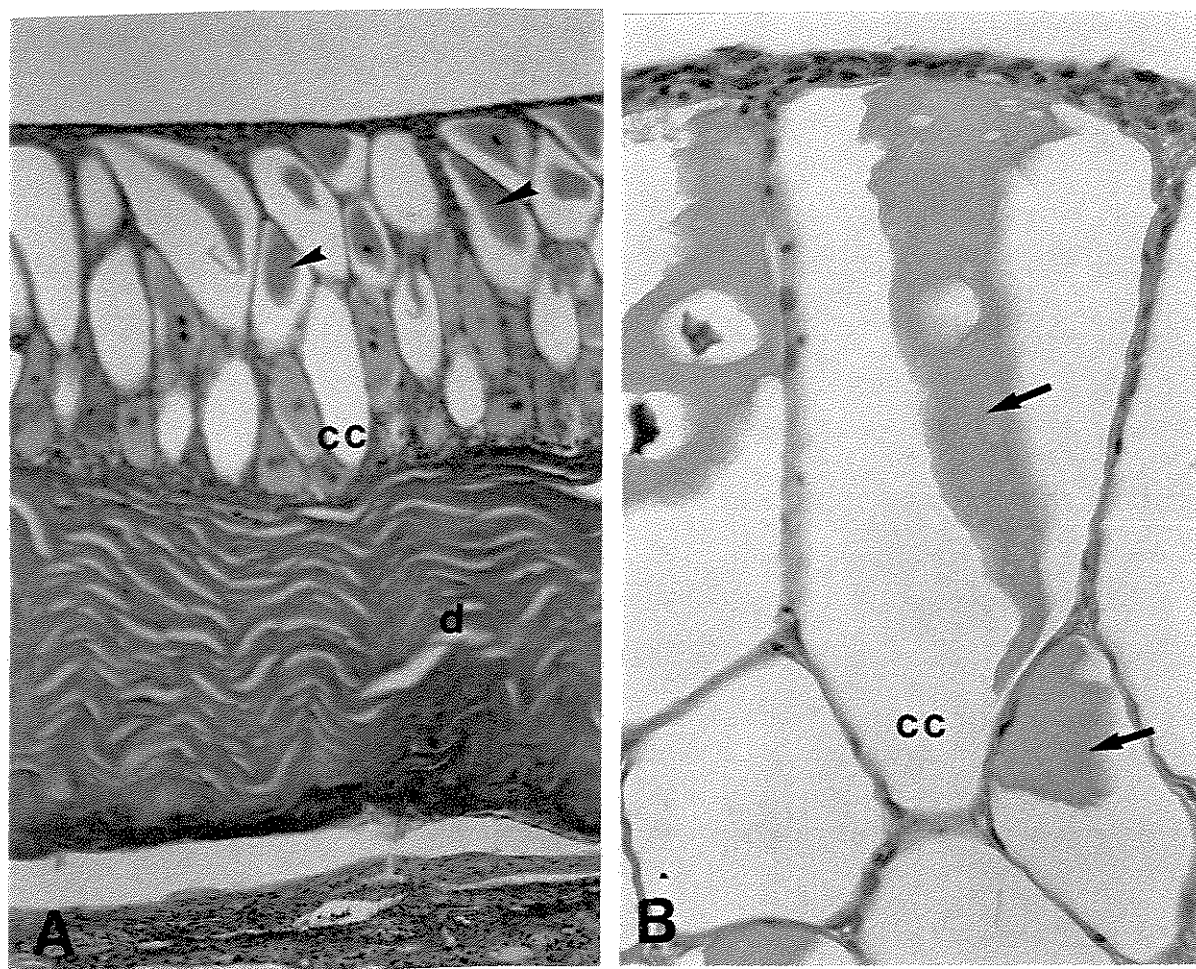


Fig. 24 - *Hemisorubim platyrhinchus* - pele ventral.

- (A) Observar as células claviformes (cc) com reação moderadamente positiva (cabeças de setas) para ninhidrina -Schiff (proteínas). Esta mesma foto mostra a positividade para a derme (d) subjacente. Aumento: 128x.
- (B) A mesma figura em maior aumento (setas). Ninhidrina-Schiff. Aumento: 512x

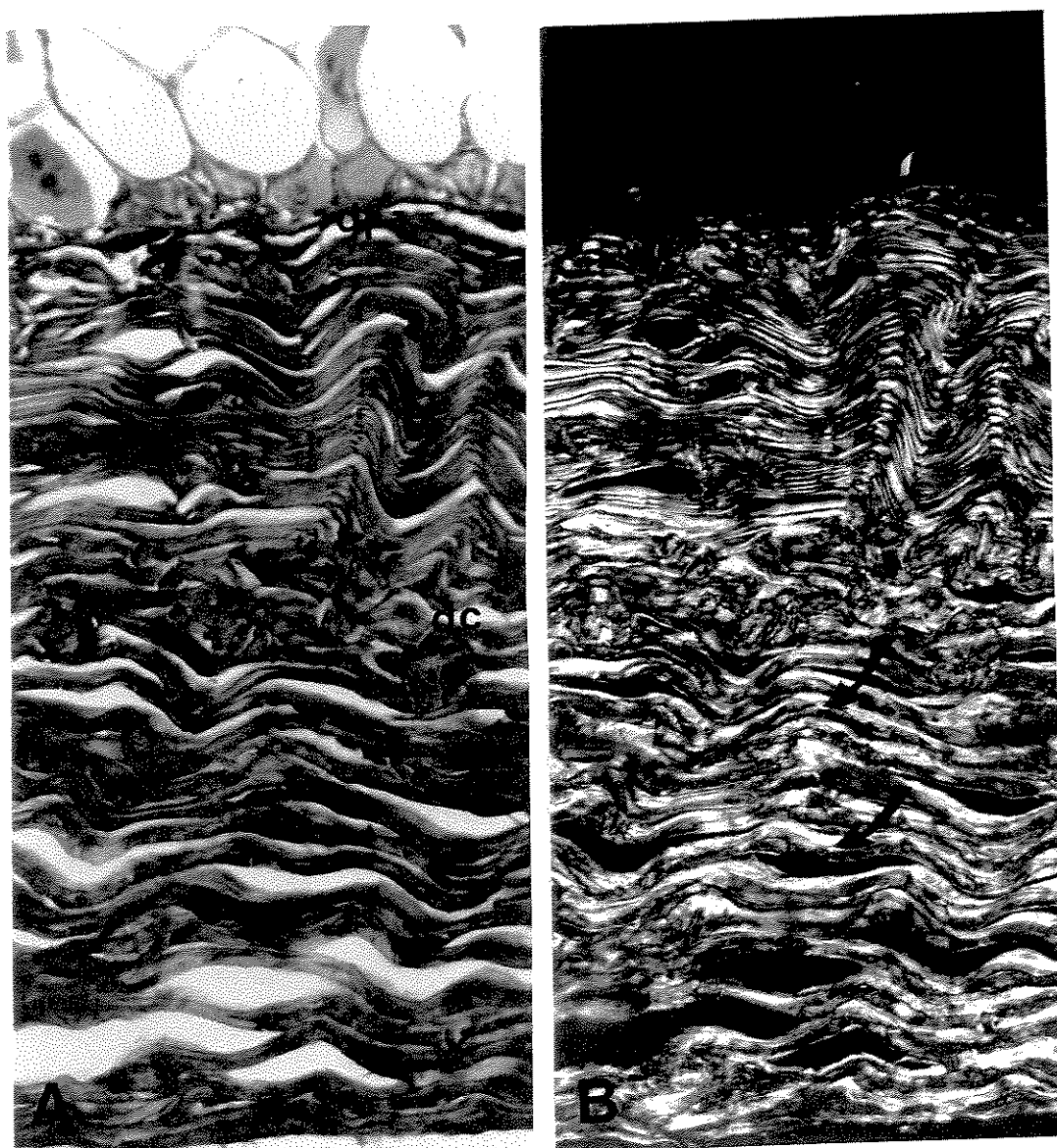


Fig. 25 - *Hemisorubim platyrhinchus* - pele dorsal.

- (A) Observar o arranjo das fibras colágenas na derme frouxa (df) e na derme compacta (dc). Picrosirius-hematoxilina. Aumento: 256x.
- (B) Observar as mesmas estruturas submetidas à polarização, evidenciando, com isso, a birrefringência das fibras colágenas (setas). Picrosirius-polarização. Aumento: 256x.

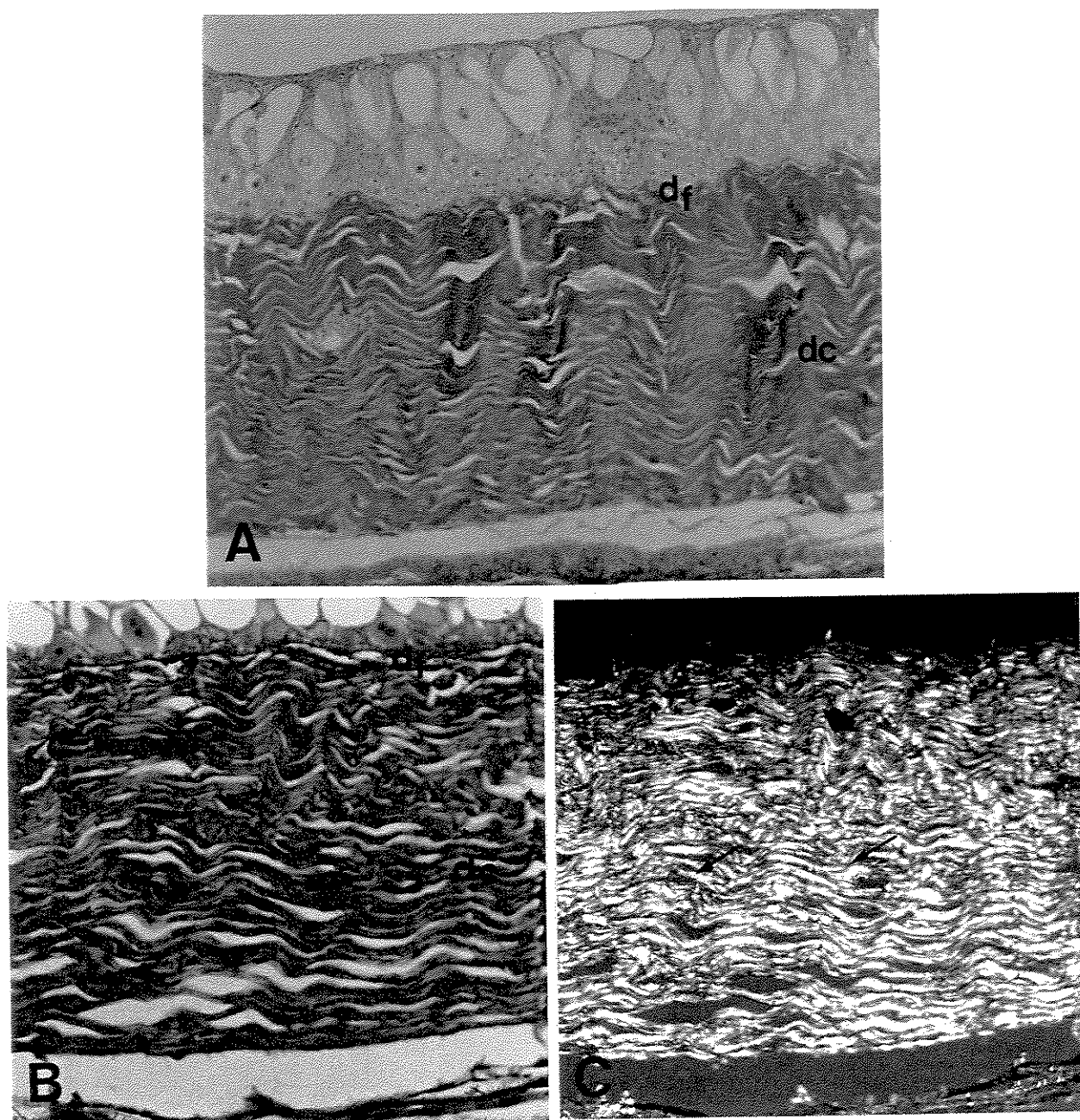


Fig. 26 – *Hemisorubim platyrhinchus* – pele ventral

- (A) Observar o arranjo das fibras colágenas da derme frouxa (df) e da derme compacta (dc). Tricrômico de Masson. Aumento: 128x.
- (B) Observar o arranjo das fibras colágenas na derme frouxa (df) e na derme compacta (dc). Picrosirius-hematoxilina. Aumento: 128x.
- (C) Esta foto mostra estruturas submetidas à polarização, evidenciando, com isso, a birrefringência das fibras colágenas. Notar que, as fibras colágenas apresentam coloração amarelada (setas) Notar fibras com orientação transversal (setas). Picrosirius-polarização. Aumento: 128x.

### 3.1.4 – Análise Morfológica Quantitativa

As medidas para avaliar a espessura da epiderme e derme das regiões dorsal e ventral foram realizadas em espécimes adultos, machos e fêmeas das espécies em estudo.

Os resultados das médias das espessuras da derme e epiderme da pele da jurupoca constam nas Tabelas 1 e 2. Nas Tabelas 3 e 4 estão representadas as medidas da espessura da epiderme e derme do mandi.

As análises realizadas no tegumento dos dois peixes em estudo, permitiram descrever a relação entre a espessura da pele (epiderme e derme) e a percentagem de ocupação das camadas de epiderme e derme, nas regiões dorsal e ventral.

Como pôde ser observado nas Tabelas 1 e 2, foi pequena a variação, para os diferentes animais analisados, em relação à espessura da epiderme e derme nas regiões dorsal e ventral da jurupoca.

Nas Tabelas 3 e 4, os dados sobre a espessura da pele das regiões dorsal e ventral, referem-se ao mandi. Nessas tabelas, podemos observar que os valores encontrados, para as espessuras das camadas da epiderme e derme, também mantêm-se constantes. No entanto, se comparadas às percentagens de ocupação das camadas da derme e epiderme para a jurupoca e o mandi, podemos observar que no mandi a derme ocupa uma parte considerável da pele, tanto na região dorsal quanto ventral, o que não é observado para a jurupoca.

**TABELA 1 - Jurupoca – Pele Dorsal ( $\mu\text{m}$ )**

| espécime | Pele   | Epiderme | Derme  | espécime | %Epiderme | % Derme |
|----------|--------|----------|--------|----------|-----------|---------|
| animal 1 | 610,30 | 243,05   | 367,25 | animal 1 | 39,82     | 60,18   |
| animal 2 | 719,10 | 351,77   | 367,33 | animal 2 | 48,92     | 51,08   |
| animal 3 | 585,30 | 275,40   | 309,90 | animal 3 | 47,05     | 52,95   |
| animal 4 | 713,60 | 312,90   | 400,70 | animal 4 | 43,85     | 56,15   |
| média    | 657,08 | 295,78   | 361,30 | média    | 44,91     | 55,09   |
| E.P.     | 69,24  | 46,99    | 37,71  | E.P.     | 3,99      | 3,99    |

**TABELA 2 - Jurupoca – Pele Ventral ( $\mu\text{m}$ )**

| Espécime | Pele   | Epiderme | Derme  | espécime | %Epiderme | % Derme |
|----------|--------|----------|--------|----------|-----------|---------|
| animal 1 | 646,90 | 301,04   | 345,86 | animal 1 | 46,54     | 53,46   |
| animal 2 | 617,02 | 255,89   | 361,13 | animal 2 | 41,47     | 58,53   |
| animal 3 | 848,80 | 391,80   | 457,00 | animal 3 | 46,16     | 53,84   |
| animal 4 | 603,10 | 266,50   | 336,60 | animal 4 | 44,19     | 55,81   |
| Média    | 678,96 | 303,81   | 375,15 | média    | 44,59     | 55,41   |
| E.P.     | 114,69 | 61,75    | 55,50  | E.P.     | 2,32      | 2,32    |

**TABELA 3 - Mandi – Pele Dorsal ( $\mu\text{m}$ )**

| Espécime | Pele   | Epiderme | Derme  | espécime | % Epiderme | % Derme |
|----------|--------|----------|--------|----------|------------|---------|
| Animal 1 | 415,74 | 68,10    | 347,64 | Animal 1 | 16,38      | 83,62   |
| Animal 2 | 268,95 | 55,71    | 213,24 | Animal 2 | 20,71      | 79,29   |
| Animal 3 | 309,06 | 67,79    | 241,27 | Animal 3 | 21,93      | 78,07   |
| Animal 4 | 372,69 | 64,49    | 308,20 | Animal 4 | 17,30      | 83,70   |
| Média    | 341,61 | 64,02    | 277,59 | Média    | 19,08      | 81,17   |
| E.P.     | 65,32  | 5,78     | 61,38  | E.P.     | 2,66       | 2,92    |

**TABELA 4 - Mandi – Pele ventral ( $\mu\text{m}$ )**

| Espécime | Pele   | Epiderme | Derme  | espécime | % Epiderme | % Derme |
|----------|--------|----------|--------|----------|------------|---------|
| Animal 1 | 363,55 | 83,90    | 279,65 | Animal 1 | 23,07      | 76,93   |
| Animal 2 | 452,72 | 72,18    | 380,54 | Animal 2 | 15,94      | 84,06   |
| Animal 3 | 531,15 | 94,68    | 436,47 | Animal 3 | 17,82      | 82,18   |
| Animal 4 | 745,42 | 75,75    | 669,67 | Animal 4 | 10,16      | 89,84   |
| Média    | 523,21 | 81,63    | 441,58 | Média    | 16,75      | 83,25   |
| E.P.     | 163,20 | 9,99     | 165,33 | E.P.     | 5,33       | 5,33    |

As Figuras de 1 à 8 foram elaboradas com base nas tabelas acima, para que as relações entre as espessuras da epiderme e derme pudessem ser melhor visualizadas.

Na Figura 1, foram agrupadas as espessuras da epiderme para as regiões dorsal e ventral da jurupoca e mandi.

Na Figura 2, foram agrupadas as espessuras da derme destes dois peixes.

Nas figuras 3 e 4, foram relacionadas as espessuras da pele dos animais.

Nas figuras de 5 à 8, estão representadas em forma de pizza as percentagens de ocupação das camadas da epiderme e derme para as diferentes regiões e animais.

Gráfico 1 - Espessura da epiderme dorsal e ventral da jurupoca e do mandi

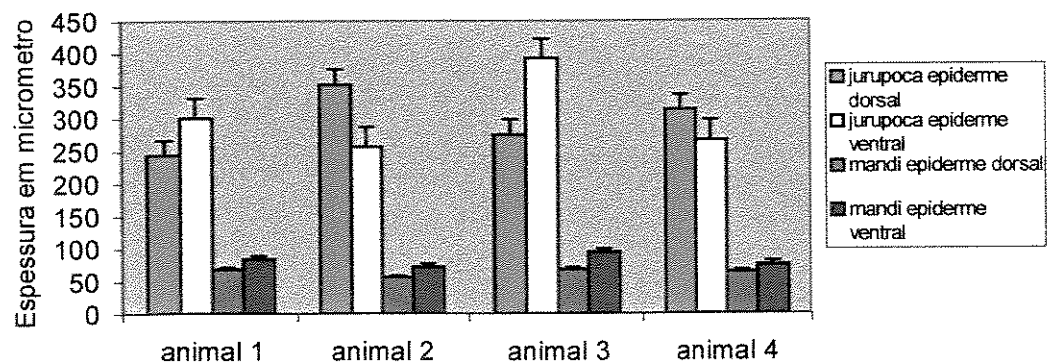


Gráfico 2 - Espessura da derme dorsal e ventral da jurupoca e do mandi

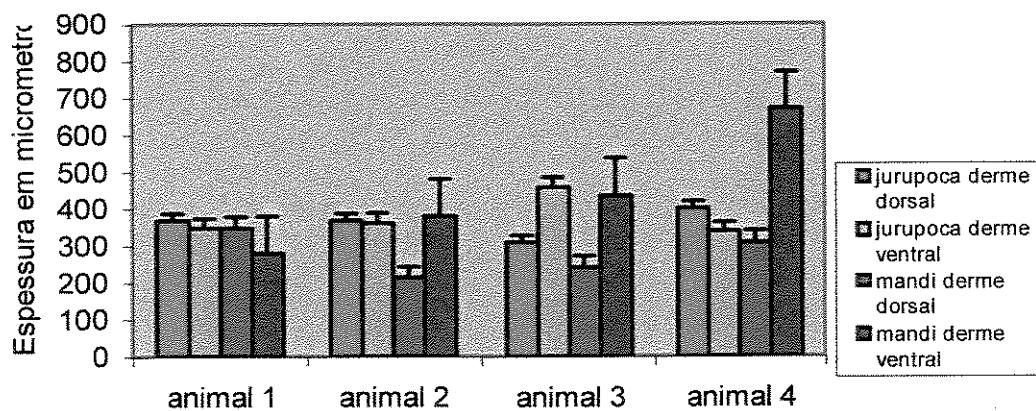


Gráfico 3 - Espessura da pele dorsal da jurupoca e do mandi

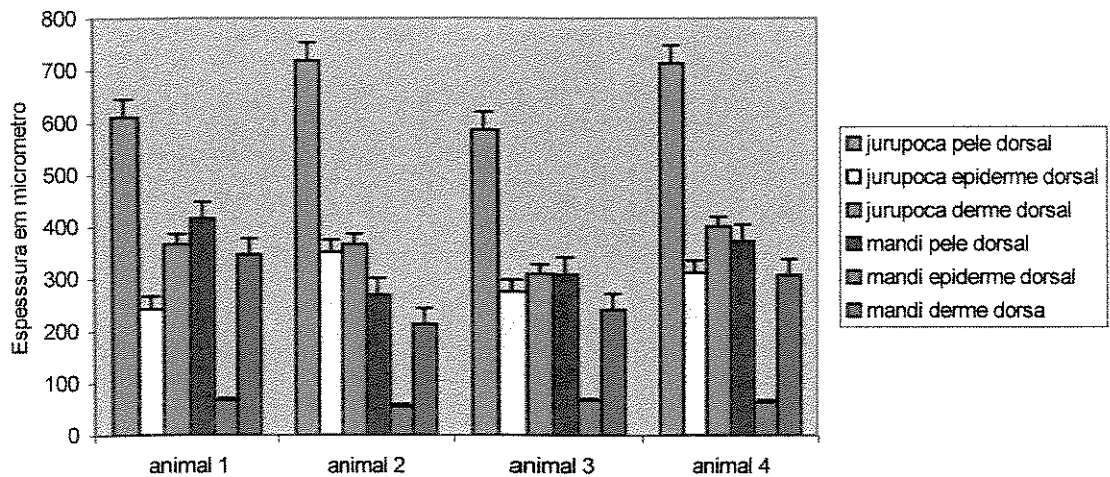


Gráfico 4 - Espessura da pele ventral da jurupoca e do mandi

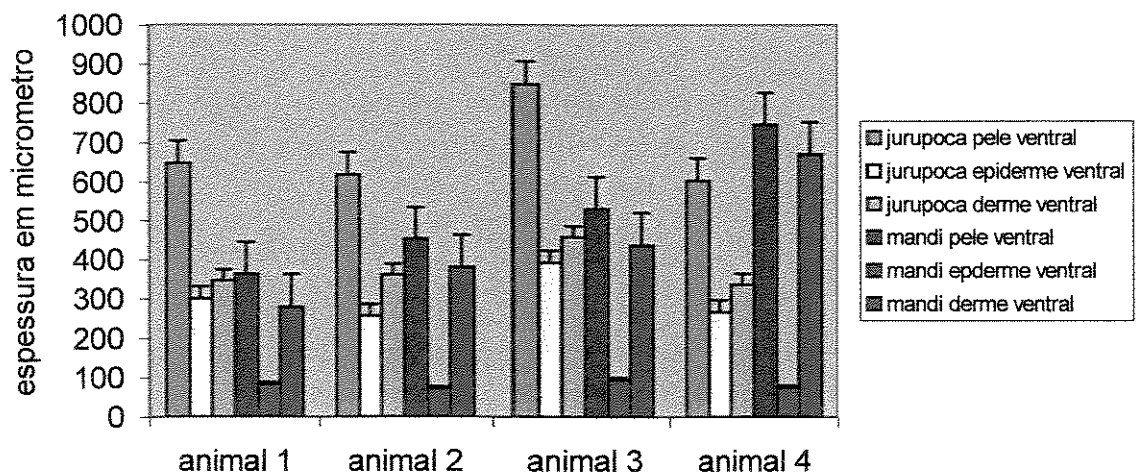


Gráfico 5 - Porcentagem da epiderme e da derme da pele dorsal da jurupoca

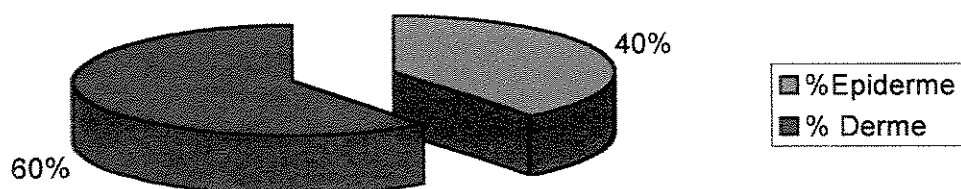


Gráfico 6 - Porcentagem da epiderme e da derme da pele ventral da jurupoca

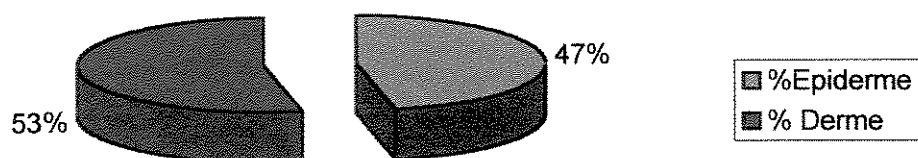


Gráfico 7 - Porcentagem da epiderme e da derme da pele dorsal do mandi

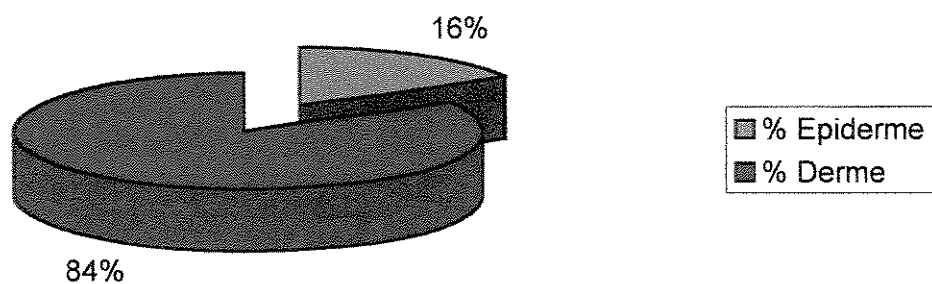
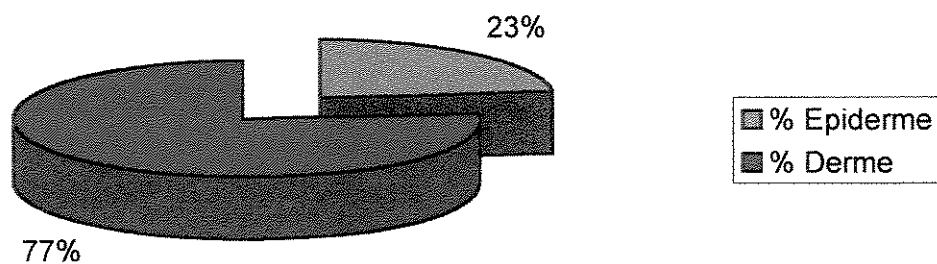


Gráfico 8 - Porcentagem da epiderme e derme da pele ventral do mandi





---

A pele do mandi (*Pimelodus maculatus*) e da jurupoca (*Hemisorubim platyrhinchus*) assemelha-se a de outros peixes teleósteos no que se refere à organização estrutural da epiderme e da derme. Assim, a epiderme desses dois peixes pertencentes à família *Pimelodidae* apresenta-se dividida em três subcamadas: o estrato germinativo, o estrato intermédio e o superficial. Nesses estratos, encontram-se três tipos celulares distintos: células epiteliais (ou queratinócitos), células claviformes e células mucosas, os quais desempenham diferentes funções.

A derme subjacente é formada por uma camada de fibras colágenas espessas que se organizam compacta e paralelamente à superfície da pele, constituindo assim um tecido conjuntivo denso modelado.

As funções exercidas pela epiderme, segundo vários autores (VAN OOSTEN, 1957; INGRAN, 1980; MITTAL & BANERJEE, 1980; WHITEAR, 1986; MITTAL et al., 1994) são: atuar como barreira protetora impedindo a invasão do organismo por diferentes patógenos; regular a permeabilidade para fluídos e íons; reduzir o atrito do corpo com a água, facilitando, desse modo, os movimentos do animal e proteger a superfície corporal da abrasão mecânica. Estas duas últimas funções encontram-se relacionadas, principalmente, à produção de muco pelos mucócitos da epiderme.

Em peixes com escamas, a epiderme mede apenas cerca de 35 µm de espessura, ou seja, é menos espessa que a epiderme dos peixes de couro, que apresentam uma espessura que pode atingir várias centenas de micrômetros. Por exemplo, nas enguias estudadas por FISHELSON (1996), a espessura da pele variou de 1 a 2mm; além disso, nesses animais a

pele da região ventral do abdômen apresentou-se mais espessa do que a da região lateral do corpo.

EASTMAN & HIKIDA (1991), estudando a pele da espécie *P. devriesi*, um peixe antártico, mostraram que a epiderme é a camada com maior espessura, medindo cerca de 85- 200 $\mu$ m.

Pode-se perceber, assim, que a espessura da pele dos peixes varia muito e essa variação está relacionada não só à espécie em questão, como também ao habitat do animal.

Nas duas espécies deste estudo, constatou-se que a espessura da pele (epiderme e derme) apresenta variações significantes, relacionadas não só com a sua localização (região do dorso ou do ventre do animal) mas também com a espécie.

A espessura da epiderme do mandi e da jurupoca diferem entre si. A epiderme das regiões dorsal e ventral do mandi é menos espessa que a da jurupoca, apresentando espessuras máximas de 75 e 95 $\mu$ m no mandi e 350 e 400 $\mu$ m na jurupoca, respectivamente.

Os resultados quantitativos obtidos pela medição da espessura da pele das duas espécies mostraram que, para *P. maculatus* (mandi), os valores alcançados pela pele mantêm-se proporcionalmente equivalentes, tanto na região dorsal quanto na ventral, correspondendo a 16% (epiderme dorsal) e 84% (derme dorsal). Para a região ventral, os valores encontrados para a epiderme e derme foram 23% e 77% do total da pele. Em *H. platyrhinchus* (jurupoca), que é uma espécie maior em peso e tamanho, a epiderme e derme da região dorsal ocupam respectivamente, 40% e 60%; para a região ventral, 47% e 53% representam a proporção ocupada pela epiderme e derme, respectivamente.

---

A espessura da derme, da mesma maneira que a epiderme, varia entre as espécies e nas diferentes partes do corpo do mesmo peixe. Em algumas enguias, por exemplo, a *Rhinomuraena*, a derme é várias vezes mais espessa do que a epiderme. Além disso, alguns peixes apresentam grupos de células adiposas localizadas entre os feixes de fibras colágenas da derme compacta, isso contribui para aumentar a espessura da pele, como observado por DOURADO et al. (1996) no pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatus*) e JUNQUEIRA et al. (1983) na espécie *B. flavicans*.

A espessura da derme do mandi e da jurupoca diferem entre si. A espessura média da derme dorsal do mandi é cerca de 300µm, e da jurupoca cerca de 380µm. O mesmo é válido para a derme ventral, assim no mandi a espessura média é de cerca de 450µm e na jurupoca cerca de 360µm.

A espessura da epiderme varia com a espécie, idade, posição no corpo e em muitos casos, nos estádios do ciclo estral. Em muitos peixes, especialmente os peixes pelágicos, a epiderme dorsal é mais espessa, mas em alguns peixes bentônicos, a epiderme ventral é mais espessa. Em relação à espessura da derme dos dois peixes, há uma grande diferença entre essas camadas. O mandi e a jurupoca são peixes da família Pimelodidae e estes representantes habitam águas profundas e escuras sendo encontrados no fundo dos rios. Então devido a isso, os bagres (peixes de couro) necessitam de uma pele mais espessa do que os peixes de escamas em virtude de possível atrito com pedras e outros elementos do local. Também relacionado à espessura, o mandi é um peixe bem menor que a jurupoca. As amostras de mandi coletadas durante este estudo, apresentaram a média de comprimento

---

padrão e peso total de 20 cm e 300g; e as da jurupoca 40cm e 600g, exatamente o dobro das apresentadas pelo mandi.

Apesar de a pele total do mandi ser mais fina, a espessura da derme é muito próxima à espessura da derme dorsal e ventral da jurupoca. Como a espessura da derme é fator preponderante para o curtimento da pele em couro, pode-se inferir que a pele do mandi, em relação à espessura da derme está tão adequada para o processamento em couro como a da jurupoca.

Nas duas espécies, o muco é produzido pelas células mucosas distribuídas entre as células epiteliais da camada superficial da epiderme. A liberação desse muco na superfície corpórea do animal forma uma película que permite maior concentração de íons no local, proporcionando uma barreira osmótica protetora. Essa mesma cobertura mucosa parece ser importante também para a manutenção de uma respiração cutânea adequada naqueles peixes que sobrevivem em períodos de seca (ROGERS, 1961; WHITEAR, 1981).

MACHIN (1965) relatou que o muco secretado pelas lesmas ou caracóis diminui a perda de água na evaporação e a produção contínua de muco é essencial, assim, para prevenir o ressecamento das células epidérmicas. A cobertura espessa de muco existente na superfície cutânea do mandi e da jurupoca pode estar relacionada ao seu modo de vida, uma vez que habitam locais mais profundos dos rios; essa cobertura mucosa reduziria o atrito com prováveis obstáculos do meio, protegendo a pele da abrasão que é um fator constante no fundo dos rios (MITTAL & BANERJEE, 1975).

A secreção de muco pelas células mucosas pode estar relacionada, ainda, aos hábitos do animal. Peixes, por exemplo, que têm o hábito de cavoucar o fundo dos rios em busca de alimento, necessitam dessa cobertura mucosa cutânea, pois esta mantém a

---

superfície externa do peixe sempre limpa; esse muco impede que a lodo do fundo dos rios acumule-se na superfície do animal (HORA, 1934). Assim, peixes de águas lamacentas ou escuras e aqueles que vivem escondidos, ou seja, entocados, secretam uma grande quantidade de muco (MITTAL & MUNSHI, 1971; MITTAL & BANERJEE, 1975).

PICKERING (1974), LEONARD & SUMMERS (1976) & WHITEAR (1986) observaram que as células mucosas estão distribuídas de forma regular na pele de *Salmo trutta*, *Salvelinus alpinus*, *Anguilla rostrata* e *Scombes scombrus*. Essas células apresentam-se muito concentradas na epiderme da região dorsal e em menor concentração na região lateral. Esta distribuição propicia, provavelmente, que o muco fique em camadas planas sobre a superfície corporal do dorso do peixe, formando uma cutícula protetora.

Certos peixes, quando expostos à temperaturas elevadas, apresentam uma redução na população de células mucosas da camada superficial; essa redução leva conseqüentemente a uma invasão de microrganismos (QUINIOU et al., 1998). Além disso, essas células, na presença de substâncias tóxicas, tornam-se, inicialmente, hiperativas, produzindo grande quantidade de muco; persistindo o estímulo lesivo elas entram em degeneração, morrendo a posteriori. Assim, o estímulo tóxico atinge primeiramente as células mucosas, no entanto, os outros tipos celulares da epiderme podem ser igualmente afetados se a injúria persistir (RAJAN & BANERJEE, 1991).

As células mucosas do mandi são grandes e esféricas. Essas células estão arranjadas em fileira única e próximas umas das outras na região superficial da epiderme. Na jurupoca, no entanto, essas células são menores, espaçadas entre si, e formam também uma única fileira. A quantidade e o tamanho das células mucosas na camada superficial é importante para o peixe porque são essas células que, através de suas secreções, constituirão a cutícula

---

protetora da pele. Dessa forma, um peixe que possua células mucosas em abundância terá maior probabilidade de sobrevivência, uma vez que estará mais protegido da invasão por microrganismos como também mais apto a fugir de predadores porque, como já se, disse este muco facilita a locomoção do animal.

Os resultados histoquímicos obtidos vieram mostrar que nas duas espécies, a secreção das células mucosas presentes na epiderme apresenta PAS positividade, indicando que o muco elaborado por essas células é rico em carboidrato neutro, ou seja, açúcares neutros e proteínas, provavelmente associados, formando uma glicoproteína. Acredita-se que o açúcar neutro esteja relacionado não só à lubrificação da superfície do tegumento, protegendo-o da abrasão mecânica, mas também impedindo a sua dessecação. Além disso, no caso da jurupoca, o muco possui, ainda, carboidratos ácidos (carboxilado e sulfatado) revelados pela positividade ao azul de alcian pH 2,5 e pH 0,5, respectivamente. O muco ácido, provavelmente, é o responsável por uma proteção mais eficiente contra a invasão de microrganismos, principalmente, fungos e bactérias que normalmente não sobrevivem em ambiente ácido.

As células mucosas de vários peixes, tais como: *P. platessa* (FLETCHER et al., 1976), *Chana striata* (MITTAL & BANERJEE, 1975; HALACKA, 1995) apresentam carboidratos ácidos sulfatados. Os carboidratos ácidos carboxilados foram encontrados no muco de *Salmonideos* (PICKERING & MACEY, 1977) e *anguiliformes* (YAMADA & YOKOTE, 1975, ZACCONE, 1979, 1980). Existem peixes que não apresentam esses carboidratos ácidos em suas células mucosas, como por exemplo, *Plotosus lineatus* (ZACCONE & LO CASCIO, 1980). Em uma das espécies deste estudo (mandi) a secreção mucosa não possui açúcares ácidos.

Além das células mucosas já descritas, existem na epiderme de várias espécies, as denominadas células claviformes. Na jurupoca, as células claviformes ocupam toda a espessura da epiderme formando várias camadas; no estrato intermédio, essas células exibem forma e tamanho variado. Em alguns peixes, a grande quantidade de células claviformes parece compensar a baixa densidade das células mucosas propiciando, assim, um mecanismo eficiente de defesa, como observado em *L. rohita* e *C. mrigala* (SINGH & MITTAL, 1990) e em *Rita rita* (MITTAL, 1968).

No mandi, ao contrário do observado na jurupoca, as células mucosas são maiores sendo algumas muito volumosas, enquanto que as células claviformes são menos abundantes constituindo uma a duas camadas no estrato intermédio. Essas células, na jurupoca, apresentam-se grandes, volumosas e alongadas, ocupando praticamente toda a espessura da epiderme. Pôde-se observar que, nas duas espécies, algumas dessas células mostram-se binucleadas. Alguns autores constataram que, nessas células, um dos núcleos desaparece quando elas terminam seu período de maturação, isto é, esse núcleo torna-se picnótico e degenera. Na maioria dos teleósteos, as células claviformes são grandes e, algumas vezes, binucleadas. Elas têm sido observadas em enguias (WHITEAR & ZACCONE, 1984; SUZUKI & KANECO, 1986; WHITEAR, 1986), polipterideos (WHITEAR, 1981) e ostariofises (PFEIFFER, 1962, 1963, 1977).

As células claviformes do *Plotosus* são providas de um ou dois núcleos encontrados no centro da célula; durante o desenvolvimento, um desses núcleos degenera-se. No mandi e na jurupoca, pôde-se observar, também, células binucleadas; além disso, no mandi, nota-se ainda, ao redor do núcleo, uma pequena área que não se cora pelos métodos rotineiros de coloração.

WHITEAR & ZACCONE (1984), estudando duas espécies de enguias (*A. anguilla* e *M. helena*) observaram que as células claviformes destes dois peixes eram ovais ou alongadas; no citoplasma, podiam ser encontrados vacúolos situados próximos ao núcleo. Na *A. anguilla*, o núcleo era claro, de cromatina frouxa e nucléolo proeminente; por outro lado, na *M. helena*, o núcleo possuía forma bizarra com cromatina mais densa. Essas características morfológicas das células claviformes das enguias foram observadas, também, nas duas espécies deste estudo.

Para alguns autores, tais como ZACCONE (1979) e RANDALL et al. (1981), as células claviformes de determinadas enguias dão reação positiva para proteínas, tanto nos vacúolos secretórios quanto no citoplasma; dependendo da espécie estas células podem, ainda, exibir uma PAS positividade sugerindo a presença de açúcares neutros.

Nas espécies deste estudo, os resultados obtidos para as células claviformes concordam com aqueles mostrados por outros pesquisadores (PFEIFFER, 1977; ZACCONE 1979; WHITEAR & ZACCONE, 1984).

Essas células claviformes, na maioria dos peixes ósseos estudados, são vistas no estrato intermédio sendo diferentes das células mucosas no que diz respeito à sua morfologia geral e às suas reações aos corantes distintos e à posição do núcleo.

As células claviformes do mandi e da jurupoca mostraram-se negativas tanto para açúcares neutros como ácidos (reação do PAS e do alcian blue); no entanto, a reação da ninhidrina-Schiff veio revelar uma quantidade moderada de proteínas no citoplasma dessas células. As células claviformes dos dois peixes deste estudo são diferentes em relação ao tamanho, forma e quantidade. Na jurupoca, estas células são grandes, chegando quase a ocupar toda a espessura da epiderme. Já no mandi, estas células são menores e redondas,

formando duas a três fileiras no estrato intermédio. Como proteínas foram detectadas nessas células, acredita-se que elas possam sintetizar algum tipo de feromônio que é uma substância de defesa encontrada na maioria dos peixes teleósteos de couro e também em alguns com escamas.

A função das células claviformes tem sido discutida e parece diferir não só entre espécies distintas como também numa mesma espécie.

HENRIKSON & MATOLTSY (1968) encontraram, nas células claviformes dos *ostariofises*, uma substância que, ao ser liberada na água, provoca uma reação de fuga em peixes da mesma espécie. A 1ª observação desta reação de fuga nos peixes foi feita por VON FRISCH (1938) em ciprinídeos da ordem dos *ostariofises*. Esse autor concluiu que a reação ao medo não está relacionada a uma determinada espécie de peixe com comportamentos específicos, mas sim com grupos taxonômicos. Outros autores afirmam que a secreção dessas células provavelmente contribua para formar uma "cutícula" encontrada em diversos peixes.

Em algumas espécies de anfíbios, as células claviformes podem armazenar e liberar água para prevenir a dessecação da pele (YOKOYA & TAMURA, 1992).

ZACCONE et al. (1990) demonstraram que, em alguns *ostariofises*, essas células exibem imunorreatividade para serotonina; RALPHS & BENJAMIN (1992) relataram que essas células possuem glicosaminoglicanas sulfatadas no seu produto secretório, que podem funcionar como feromônio.

Em *Rita rita* (MITTAL & MUNSHI, 1970), as células claviformes formam-se a partir das células prismáticas localizadas junto à membrana basal. Eles observaram, ainda, que o núcleo dessas células, na fase inicial do seu desenvolvimento, divide-se sem que

ocorra a divisão do citoplasma, formando-se, assim, células binucleadas. A célula claviforme binucleada pode perder um dos seus núcleos. Inicialmente, o núcleo se torna picnótico degenerando-se posteriormente. Neste estudo, as células claviformes também apresentaram o mesmo fenômeno.

Além das duas células glandulares (mucosas e claviformes), a epiderme do mandi e da jurupoca apresenta-se constituída por células epiteliais (queratinócitos) que são observadas nos três estratos da epiderme. Na jurupoca, as células epiteliais da camada superficial mostraram positividade para carboidratos ácidos carboxilados e sulfatados, revelada pelo método histoquímico do alcian blue. Observação semelhante foi feita por MITTAL & BANERJEE (1974) e por BANERJEE & MITTAL (1975a) em dois peixes teleósteos: *Bagarius bagarius* e *Clarias batrachus*.

A produção de muco pelas células epiteliais da epiderme dos peixes pode ser considerada um grande passo no processo evolutivo. Sabe-se que o muco é o principal produto da pele da classe dos anfíbios (PARAKKAL & MATOLTSY, 1964).

Estruturas sensoriais denominadas neuromastos foram encontradas na epiderme das duas espécies. Os neuromastos do mandi são maiores do que aqueles da jurupoca. Além disso, a jurupoca apresenta dois tipos distintos de neuromastos: um deles, localizado no estrato superficial da epiderme, é constituído por células sensoriais e de sustentação; o outro se apresenta totalmente imerso na espessura da epiderme e é denominado órgão ampolar. As células sensoriais dos neuromastos apresentam processos filiformes nas extremidades voltadas para a superfície livre.

De acordo com BULLOCK & ROBERTS (1975), os componentes sensoriais dos neuromastos consistem de um conjunto de células mecanorreceptoras de formato

---

semelhante ao da pêra, com numerosos cílios na superfície apical. Estas células encontram-se ancoradas por células fusiformes, chamadas células de sustentação.

FISHELSON (1996), ao estudar algumas enguias marinhas, encontrou diversos tipos de estruturas sensoriais na epiderme desses peixes. Ele observou que essas estruturas são muito abundantes na região da epiderme da cabeça.

COOMBS et al. (1988) classificaram os neuromastos em três categorias:

- a) Neuromastos que se situam em fossetas formadas por uma invaginação na epiderme;
- b) o órgão ampolar situa-se também em invaginações da epiderme; são semelhantes aos órgãos eletrorreceptores presentes em *siluroides* (Müllinger, 1964);
- c) os neuromastos superficiais situados nas papilas da derme superficial.

A presença de neuromastos superficiais é variável entre as espécies (GRIZZLE & ROGERS, 1979; COOMBS et al., 1988); geralmente, eles são menos freqüentes em peixes jovens do que em adultos; eles variam em número entre espécies de mesmo tamanho, como observado em *Diplomystes camposensis*.

Os peixes têm na pele uma variedade de adaptações estruturais com função protetora, capacitando-os a ocuparem diferentes habitats; por exemplo, na superfície da epiderme do salmão existem microdobras que proporcionam defesa mecânica contra traumas. Essas estruturas podem ainda auxiliar na retenção de secreção mucosa na superfície da pele (HAWKES, 1974). A jurupoca e o mandi também mostram essas microdobras nas células epiteliais pertencentes à camada superficial da pele.

A derme compacta do mandi e da jurupoca mostrou-se espessa e com fibras colágenas orientadas paralelamente à superfície da epiderme.

HERTWIG et al. (1992), descrevendo a densidade e a espessura do estrato compacto do *T. steindachneri*, relataram que a grande quantidade de fibras colágenas na derme propicia uma resistência tênsil, fornecendo assim à pele uma consistência semelhante ao do couro, apropriada para resistir às pressões geradas quando o corpo do animal é distendido. A derme compacta dos *T. steindachneri*, desse modo, serve para dar proteção mecânica ao animal e facilitar seu desempenho no meio aquático.

Através do emprego de diferentes metodologias, tais como o tricrômico de Masson, Picrosirius-hematoxilina, Picrosirius-polarização e microscopia eletrônica de varredura foi possível caracterizar os tipos de tecidos conjuntivos, o arranjo, a composição e a disposição das fibras colágenas encontradas na derme do mandi e da jurupoca.

O método do Picrosirius-polarização é um procedimento específico para detectar colágeno, porque esse método mostra diferentes interferências de cor e intensidades de birrefringências. Além disso, esse método é utilizado, também, para se estudar a distribuição e a orientação dos tipos de colágenos no tecido segundo alguns pesquisadores (JUNQUEIRA et al., 1978 e JUNQUEIRA et al., 1982). Por esse método, pôde-se observar que as fibras colágenas mais espessas coram-se do amarelo ao vermelho, exibindo birrefringência acentuada. As fibras colágenas mais finas são pouco birrefringentes e mostram cor esverdeada (JUNQUEIRA et al., 1978; JUNQUEIRA et al., 1982).

PEREZ-TAMAYO & MONTFORT (1980) relataram que a intensidade da birrefringência das fibras de colágeno depende da sua espessura. Estes pesquisadores, ao estudar o efeito da collagenase sobre as fibras colágenas do arcabouço hepático, mostraram

---

uma redução gradual na espessura da fibra colágena, resultando, em consequência, numa diminuição da intensidade da birrefringência e mudança na cor da fibra de vermelho para amarelo e verde.

Ao se comparar os resultados obtidos pelos diferentes métodos empregados, pôde-se constatar que os dois peixes estudados apresentam uma derme muito espessa, com fibras colágenas orientadas paralelamente à superfície da epiderme, como observado em outros peixes teleósteos sem escamas. Com a coloração pelo Picrosirius-polarização, foram verificadas, na derme do mandi, fibras que variaram do amarelo ao vermelho, tanto na pele da região dorsal quanto na ventral. As fibras coradas em vermelho se encontravam em maior quantidade. A pele da região dorsal da jurupoca apresentou uma derme constituída, principalmente, por fibras de coloração vermelha e verde e na região ventral, vermelha e amarela.

Pela microscopia eletrônica de varredura, pôde-se observar que a derme possui um arranjo distinto nos dois peixes. Assim sendo, a derme compacta da jurupoca apresenta maior quantidade de fibras colágenas espessas, orientadas paralelamente à superfície da pele. No mandi, observam-se, além dessas fibras colágenas dispostas paralelamente, fibras colágenas dispostas perpendicularmente à epiderme.

A análise histológica ao microscópio de luz e eletrônico mostrou que a pele dos dois peixes estudados possui uma organização estrutural que poderia tornar-se apropriada a sua transformação em couro. No entanto, testes mais adequados como, por exemplo, aqueles que verificam não só a resistência à tração, como também a maciez, necessitariam ser realizados para que se pudesse afirmar que a pele desses peixes possui os requisitos necessários para o seu processamento em couro.

## **5. Conclusões**

---

---

Este trabalho permitiu as seguintes conclusões:

1. Do ponto de vista histológico, a pele das duas espécies estudadas, possui uma organização estrutural comum como aquela encontrada em outros teleósteos.
  2. O perfil histoquímico apresentado pelas células mucosas das regiões dorsal e ventral da pele não é semelhante para as duas espécies. O mandi e a jurupoca apresentam carboidratos neutros provavelmente ligados à proteínas na composição do muco. Esses açúcares neutros são importantes para lubrificar a superfície corporal do peixe, diminuindo assim a abrasão mecânica e a dessecação da pele. Além disso, na jurupoca observou-se também carboidratos ácidos em pH 2,5 e pH 0,5 na secreção mucosa. Esses carboidratos ácidos impedem a instalação de microrganismos na pele (fungos e bactérias); assim sendo, a jurupoca possui um muco mais apropriado no que se refere à proteção contra a invasão de patógenos.
  3. A secreção das células claviformes da pele das regiões dorsal e ventral apresenta reação fraca para proteínas. A produção de proteínas por essas células sugere que as mesmas sintetizam feromônios, que são substâncias de alarme entre peixes da mesma espécie.
  4. No mandi pôde-se constatar através do método Picrosirius-hematoxilina que a derme apresenta em maior quantidade fibras colágenas de coloração avermelhada ou seja mais espessas. Já na jurupoca a derme mostra maior quantidade de fibras colágenas de coloração amarelada e esverdeada que são fibras colágenas menos espessas.
-

---

Dessa forma acredita-se que a derme do mandi seja mais adequada ao curtimento em virtude de apresentar fibras colágenas mais espessas e portanto, mais resistentes.

5. Através de medidas morfométricas realizadas na derme dos dois peixes constatou-se que a derme dorsal da jurupoca apresenta maior espessura que a do mandi; o contrário ocorre em relação à derme ventral do mandi, sendo esta, portanto, mais espessa do que a da jurupoca

---

## **6. Abstract**

---

The skin of fish constitutes the first protective barrier between the internal medium of the animal and the environment; it protects against ionic and hydric imbalance and works as a defense mechanism against microorganisms from environment. At the present, we studied the morphology of the tegument of two Pimelodidae skin fish collected from rivers of the basin of Paraguai River – MS: *Hemisorubim platyrhinchus* – “jurupoca” and *Pimelodus maculatus* “mandi”. The cellular types of the epidermis as well as the disposition of the collagen fibres of the compact dermis of the dorsal and ventral regions were compared. The analysis of the results showed that the skin of the two fishes has a common structural pattern, displaying, however, small variations related mainly to the habitat and behaviour of the animals. By using histochemical techniques which display neutral and acid mucous substances, neutral carbohydrates were seen in the mucous cells of the epidermis in both species and acid carbohydrates have only been seen in “jurupoca”. In the club cells of “jurupoca” and “mandi”, a moderate amount of proteins were seen, which was disclosed through a Schiff-ninhydrine reaction. By using the Picrosirius-hematoxylyn method coupled with polarization microscopy, it was possible to display the settling and orientation of the collagen fibers of the compact dermis. By measuring the thickness of epidermis and dermis of both fish, we observed that the epidermis of the dorsal and ventral regions of “jurupoca” was thicker than that of “mandi”; the same was observed for dorsal dermis. Regarding the ventral dermis, “mandi” is the species that has the greatest thickness. In conclusion, the present work suggests that the skin of both fishes-jurupoca and mandi- can be used to manufacture skin goods, since the settling and thickness of their collagen fibers provide the same endurance and softness of the skin taken from other animals.

Key-words: histology; histochemistry; integument; mucous cell; club cells, teleosts.

## **7. Referências Bibliográficas**

- ARRATIA, G. & HUAQUIN, L. Morphology of lateral line system and of the skin of diplomystid and certain primitive *loricarioid* catfishes and systematic and ecological considerations. *Zool. Forsch.* 36:1-110, 1995.
- BANCROFT, J. D. & STEVENS, A. **Theory and practice of histoquimical técnicas.** 3 ed. Edinburgh: C. Livingstone, 1990, 726p.
- BANERJEE, T. K. Histochemistry and the functional organization of the skin of a "live fish" *Clarias batrachus* (Linn.) (Clariidae, Pisces). *Mikrosc.*, 31: 333-349, 1975.
- BULLOCK, A.M. ROBERTS, R.J. The Dermatology of marine teleost fish. I. The normal integument. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 13: 383-411, 1975.
- BENSOUILAH, M. & DENIZOT, J. P. Taste-Buds and Neuromasts of *Astyanax jordani* – distribution and immunochemical demonstration of co-localized substance-P and Enkephalins. *Europ. J. Neurosc.* 3: 407-414, 1991.
- BURKHARDT-HOLM, P., ESCHER, M., MEIER, W. Waste-water management plant cause cellular alterations in the skin of *Brown trout*. *J. of Fish Biol.* 50:744-758, 1997.
- CARMIGNANI, M. P.A. & ZACCONE, G. Histochemical investigations on the epidermis of the electric fish *Malopterurus eletricus* Lacèp (Teleostei, Malopteruridae) *Acta histochem.* 48:51-61, 1974.

- CARMIGNANI, M. P. A & ZACCONE, G. Histochemical analysis of epidermal cells and mucous cells in the skin of *Torpedo ocellata* Rafinesque. **Acta histochem.** 52: 100-110, 1975.
- COOMBS, S., JANSSEN, J. & WEBB, J. F. Diversity of lateral line systems: evolutionary and functional considerations. In: ATEMA, J., FAY, R. R., POPPER A. N. & TAVOLGA, W. N. (eds.): **Sensory biology of Aquatic animals**. New York, Berlin, Heidelberg: Springer, 1988, 553-593.
- COURO DE PEIXE EM EVIDÊNCIA. **Tecnicouro**. Novo Hamburgo, 12: 6, 1990.
- DOURADO, D.M., SOUZA, M.L.R., SANTOS, H.S.L. Structure of cachara skin (*Pseudoplatystoma fasciatus*) cultivated in rio Miranda. In: IX Congresso de Biologia Celular. Águas de Lindóia. Anais. **Brazilian J. of Morphol Scien.**, 13 (1), 1996.
- EASTMAN, J.T. & HIKIDA, R.S. Skin structure and vascularization in the Antartactic Notothenioid fish *gymnodraco acuticeps*. **J. morph.**, 208: 347-365, 1991.
- FISHELSON, L.A. Comparative study of ridge-mazes on surface epithelial cell membranes of fish scale (Pisces, Teleostei). **Zoomorph.** 104: 231-238, 1984.
- FISHELSON, L. Skin morphology and cytology in marine eels adapted to different lifestyles. **Anat. Rec.** 246: 15-29, 1996.

FLETCHER, T. C., JONES, R. & REID, L. Identification of glycoproteins in globet cells of epidermis and gill of plaice (*Pleuronectes platessa* L.), flounder (*Platichthys flesus* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). **Histochem. J.** 8: 597-608, 1976.

GELINEK, K. On the ampullary organs of the South-American paddle-fish *Sorubim lima* (Siluroidea, Pimelodidae). **Cell Tissue Res.** 190: 357-369, 1978.

EXÓTICA CURTIÇÃO. **Globo Rural Economia.** Rio de Janeiro. 6-7, 1990.

GONZALEZ, R.J., WOOD, C.M., WILSON, R.W., PATRICK, M.L., BERGMAN, L.H., NARAHARA, A., VAL, A. L. Effects of water pH and calcium concentration on Ion balance in fish of the rio Nêgro, Amazon. **Physiol. Zool.** 71: 15-22, 1998.

GRIZZLE, J. M., ROGERS, W. A. **Anatomy and histology of the Channel Catfish.** Alabama:Auburn, , 1976, 94p.

GROMAN, D. **Histology of the Striped bass.** Connecticut, Starrs, 1982, 116p.

HALACKA, K. Structure and histochemistry of the epidermes of nase (*Chondrostoma nasus*). **Folia Zool.**, 44: 99-104, 1995.

HAWKES, J. W. The structure of fish skin. I. General organization. **Cell Tiss. Res.** 149: 47-158, 1974.

- 
- HERINKSON, R.C., & A.G. MATOLTSY. The fine structure of the teleostei epidermis. III. Club cells and other cell types. **J. Ultrastruct. Res.** 21: 222-232, 1968.
- HERTWIG, I. , EICHELBERG, H., HENTSCHEL, J. Light and electron microscopic studies of the skin of the *Palembang puffer*, *Tetraodon steindachneri* (Teleostei, Tetraodontidae). **Zoomorph.** 111: 193-205, 1992.
- HIBIYA, T. **An Atlas of fish histology** – Normal and pathological features. Tokyo: Kodansha Ltd., 1982, 147p.
- HORA, S.L. A note on the biology of the precipitating reaction of the mucus of boro fish *Pisodonophis boro* (Ham. Buch). **J. Proc. Asiatic Soc. Bengal** 29: 271-274, 1934.
- HUNTER, C. R., & NAYUDU, P. L. Surface folds in superficial epidermal cells of three species of teleost fish. **J. of Fish Biol.** 12:163-166, 1978.
- IGER, Y. & BONGA, W. S. E. Cellular responses of the skin of carp (*Cyprinus carpio*) exposed to acidified water. **Cell Tiss Res.** 275: 481-490, 1994.
- INGRAN, G.A. Substances involved in the natural resistance of fish to infeccion. **J. Fish Biol.** 16: 23-60, 1980.

- JUNQUEIRA, L.C.U., BIGNOLAS, G. & BRETANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochem. J.** 11: 447-455, 1979.
- JUNQUEIRA, L. C. U., COSSERMELLI, W. & BRETANI, R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. **Arch. Histol. Jpn.**, 41: 267-274, 1978.
- JUNQUEIRA, L. C. U., TOLEDO, A. M. S., PORTER, K. R. Observations on the structure of the skin of the teleost *Fundulus heteroclitus* (L). **Arch. Histol. Jap.**, 32: 11-15, 1970.
- JUNQUEIRA, L. C. U., MONTES, G. S. AND SANCHES, E. M. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by Picrosirius-Polarization Method. **Histochem.** . 74: 153-156, 1982.
- JUNQUEIRA, L. C. U., JOAZEIRO, P. P., MONTES, G. S., MENEZES, N. & PEREIRA-FILHO, M. The collagen fiber architecture of brasilian naked skin. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** 16: 313-316, 1983.
- KELLY, J., ANAKA, S., HARDT, T., T., EIKENBERRY, .F. & BRODSKY, B. Fibril-forming collagens in Lamprey. **J. Biol. Chem.**, 263: 980-97, 1988.

- KENT, G. C. **Comparative anatomy of vertebrates**. 6<sup>a</sup> ed. St. Louis: Times Mirror / Mosby College Publishing. 1987, 121p.
- KIERNAN, J. **Histological & histochemical methods: theory and practice**. 2 ed., Oxford: Pergamon, 1990, 433p.
- LEONARD, J.A. & SUMMERS, R.G. The ultrastructure of the integument of the american eel, *Anguilla rostrata*. **Cell tissue Res.**, 171: 1-30, 1976.
- LEPPI, T. J. Morphochemical analysis of mucous cells in the skin and slime glands of hagfish. **Histochem.**, 5: 68-78, 1968.
- LUNA, L.G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. New York: McGraw-Hill, 1968.
- MACHIN, J. Cutaneous regulation of evaporative water loss in the common garden snail *Helix aspersa*. **Nature.**, 52: 18-19, 1965.
- MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Ed. Pedagógica e Universitária Ltda, 1980, 277p.
- MERRILEES, M.J. Epidermal fine structure of the teleost *Esox americanus* (Esocidae, Salmoniformes). **J. Ultrastruct. Res.**, 47: 272-283, 1974.

- MITTAL, A. K. Structure of the integument of a fresh-water teleost *Bagarius bagarius* (Ham) (Siluridae, Pisces). **J. Morphol.**, 130: 3-10, 1970.
- MITTAL, A. K. Studies on the structure of the skin of *Rita rita* (Ham.) (Bagridae, Pisces) in relation to its age and regional variations. **Ind. J. Zoot.**, 9: 61-78, 1968.
- MITTAL, A. K., AGARWAL, S. K. & BANERGEE T. K. Protein and carbohydrate histochemistry in relation to the keratinization of the epidermes of *Barbus sophor* (Cyprinidae, Pisces). **J. Zool.**, 179: 1-7, 1976.
- MITTAL, A. K. & BANERJEE, T. K. Keratinization versus mucus secretion in fish epidermis. In: Sperman, R.I.C., Riley, P. A. **The skin of vertebrates**. Linean Society Symposium Series 9, London, England: Academic Press., 1-12, 1980.
- MITTAL, A.K. & BANERGEE, T.K. Structure and keratinization of the skin of a fresh-water teleost *Notopterus notopterus* (Pallas) (Notopteridae, Pisces). **J. Zool.**, 174: 341-355, 1974.
- MITTAL, A. K. & BANERJEE, T. K. Histochemistry and the structure of the skin of a "murrel" *Channa striata* (Bloch, 1797) (Characiformes, Channidae). I. Epidermis. **Can. J. Zool.**, 53: 833-843, 1975.
- MITTAL, A. K. & MUNSHI, J. S. D. On the origin and cytomorphosis of "Club Cells" in the skin of *Rita rita* (Ham) (Bagridae, Pisces). **Z. Mikr. Anat. Forsch.**, 82: 229-235, 1970

- MITTAL, A. K. & MUNSHI, J. S. D. A comparative study of the structure of the skin of certain air-breathing fresh-water teleost. **J. Zool.**, 163: 513-532, 1971.
- MITTAL, A. K., WHITEAR M. & AGARWAL, S. K. Fine Structure and histochemistry of the epidermis of the fish *Monopterus albus*. **J. Zool.** V. 191, p. 107-125, 1980.
- MITTAL, A. K. , UEDA, T. , FUJIMORI, O. & YAMADA, KAZUORI. Histochemical analysis of glycoproteins in the epidermal mucous cells and sacciform cells of an Indian Swamp eel, *Monopterus albus* (Hamilton) (Synbranchiformes, Pisces). **Acta Histochem.** 27:193-204, 1994.
- MONTES, S. Structural of the fibres of the collagenous and elastic systems. **Cell Biol. International.**, 20: 15-27, 1996.
- MÜLLINGER, A.M. The organization of ampullary sense organs in the electric fish *Gymnarchus niloticus*. **Tissue cell.**, 1: 31-52, 1964.
- OKITSU, S., UMEKITA & OBARA, S. Ionic composition of the media across the sensory epithelium in the ampullae of Lorenzini of the marine catfish *Plotosus*. **J. Comp. Physiol.** 126: 115-121, 1978.

- OTTESEN, O. H. & OLAFSEN, J.A. Ontogenetic development and composition on the mucous cells and the occurrence of sacular cells in the epidermis of *Atlantic halibut*. **J. Fish Biol.** V. 50, p. 620-633, 1997.
- PARAKKAL, P. F., ALEXANDER, N. J. Keratinization a survey of vertebrate the skin of *Rita rita* (Ham.) (Bagridae, Pisces). **Zeitschr. F. Mikro. Anat. Forsch.** v. 82, p. 229-235, 1969.
- PARAKKAL, P.F. & MATOLTSY, A.G. A study of the fine structure of the epidermis in *Rana pipens*. **J. Cell Biol.**, 20: 85-94, 1964.
- PEARSE, A.G.E. Histochemistry: theoretical and applied. 2ed. Edinburg: C. Lvingstone, 1968, 998p.
- PÉRES-TAMAYO, R. & MONTFORT, I. The susceptibilidade of hepatic to homologous collagenase in human and experimental cirrhosis of the liver. **Am. J. Pathol.**, 100: 42-442, 1980.
- PFEIFFER, W. The fright reation of fish. **Biol. Rev.**, 37: 495-511, 1962.
- PFEIFFER, W. Alarm substances. **Experientia.**, 19: 113-123, 1963.
- PFEIFFER, W. The distribution of fright reation and alarm substance cells in fish. **Copeia.**, 4: 653-665, 1977.

- PICKERING, A. D. The distribution of mucous cells in the epidermis of Brown trout *Salmo trutta* (L) and the char *Salvelinus alpinus* (L). **J. Fish Biol.**, 6: 11-118, 1974.
- PICKERING, A. D & MACEY, D. J. Structure, histochemistry and the effect of handling in the mucous cells of the epidermis of the char *Salvelinus alpinus* (L). **J. Fish Biol.**, 10: 505-512, 1977.
- QUINIOU, S.M.A, BIGLER, S., CLEM, L. W. & BLY, J. E. Effects of water temperature on mucous cells distribution in channel catfish epidermis: a factor in winter saprolegniasis. **Fish and Shellfish Immunol.**, 8: 1-11, 1998.
- RAJAN, M.T. & BANERJEE T.K. Histopathological changes induced by acute toxicity of mercuric chloride on the epidermis of freshwater catfish – *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Ecotoxicol Environ. Saf.**, 22: 139-152, 1991.
- RALPHS, J. R. & BENJAMIN, M. Chondroitin and keratan sulphate in the epidermal club cells of teleosts. **J. Fish Biol.**, 40: 473-475, 1992.
- RANDALL, J.E., AIDA, K., OSHIMA, Y. & HOSHIMATO, Y. Occurrence of a criotoxin and hemagglutinin in the skin mucous of the moray eel, *Lycodontis nudivomer*. **Mar. Biol.**, 62: 179-184, 1981.

- 
- ROGERS, H.J. The structure and function of hyaluronate. **Symp. Biochem. Soc.**, 20: 51-78, 1961.
- ROMER, A. S. & PARSONS T. S. **Anatomia comparada dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu Edit. São Paulo Ltda, 1985, 559p.
- SINGH, S. K. & MITTAL, A. K. A comparative study of epidermis of the common carp and the three Indian major carp. **J. Fish Biol.**, 36: 9-19, 1990.
- SANTOS, E. **Peixes de água doce**. 2 ed. Rio de Janeiro: Briguier. 1962, 278p.
- SOUZA, M.L.R., DOURADO, M.D. & SANTOS, H.S.L. Ultrastructure of "pintado"(*Pseudoplatystoma corruscans*) and "cachara"(*Pseudoplatystoma fasciatus*) skin. **Word Aquiculture** 97., 396-397, 1997.
- STRUSSMANN, C. A., NIN, F., TAKASHIMA, F. Microscale variation in epidermal thickness, distribution and size of mucus and alarm substance cells in the skin of juvenile fancy Carp (*Cyprinus carpio*). **Copeia.**, 4: 956-961, 1994.
- SULTANA, R. & RAO, K.S. Observations on the structure and histochemistry of the skin of *Mystus gulio* (Ham.) (Osteichthyes: Siluriformes, Bagridae). **Folia Morphol.**, 38: 225-230, 1990.

- 
- SUZUKI, Y & KANEKO, T. Demonstration of the mucous hemagglutinin in the club cells of eel skin. **Development. Comp. Immunol.** 104: 509-518, 1986.
- TOCK, E.P.C. & PEARCE, A.G.E. Preservation of tissue mucins by freeze-drying and vapour fixation. **J. R. Microsc.**, 84: 519-537, 1965.
- VAN OSTEN, J. The skin and scales. The physiology of fishes: metabolism. **New York: Academic Press.**, 1: 207-244, 1957.
- VON FRISCH, K. Zur psychologie des Fisch-Schwarmes. **Nature.**, 26: 601-606, 1938.
- ZACCONE, G. Struture and histochemistry of epidermis in the red piranha *Serrasalmus nattereri* (Kner, 1860) (Characidae, Teleostei). **Cell & Mol Biol.**, 26: 75-84, 1980.
- ZACCONE, G. Studies on the structure and histochemistry of the epidermis in the Air-Breathing teleost *Mastacembelus armatus* (Mastacembelidae, Pisces). **Z. Mikrosk. Anat. Forsch.**, 95: 809-826, 1981.
- ZACCONE, G. Mucosaccharide histochemistry and histoenzymorphologic observations on the epidermis of *Arisoma balearicum* de La Roche (Anguilliformes, Pisces). **Acta Histochem.**, 65: 191-208, 1979.
-

- ZACCONE, G. & LO CASCIO, P. Studies on the structure and histochemistry of epidermis in the marine catfish *Plotosus lineatus* (Thunberg, 1791) (Plotosidae, Pisces) **Acta Histochem.**, 69: 106-118, 1981.
- ZACCONE, G., TAGLIAFIERRO, G., FASULO, S., CONTINI, A., AINIS, L. & RICCA, M. B. Serotonin-like immunoreactivity in the epidermal club cells of teleost fishes. **Histochem.** 93: 355-357, 1990.
- ZAKON, H. H. The electroreception: diversidade in structure and function. In ATEMA, J., FAY, R. R., POPPER, A. N. & TAVOLGA, W. N.: **Sensory biology of Aquatic Animals**: 813-850. New York, Berlin, Heidelberg: Springer, 1988.
- WHITEAR, M. The skin of fishes including cyclostomes: epidermis. In: J. BEREITER-HAHN, A. G. MATOLTZY, & K. S. RICHARDS, eds. **Epidermis. Biology of the integument, vertebrates**. Berlin: Springer-Verlag. 2: 9-64, 1986.
- WHITEAR, M. Secretion in the epidermis of polypteriform fish. **Z. Mikrosch. Anat. Forsch.**, 95: 531-543, 1981.
- WHITEAR, M. The skin surface of bony fishes. **J. Zool.**, 160: 437-454, 1970.
- WHITEAR, M. & MITTAL, A. K. Fine structure of club cells in the skin of ostariophysan fish. **Z. Mikrosch. Anat. Forsch.**, 97: 141-157, 1983.

- WHITEAR, M & MITTAL, A. K. Structure of the skin of *Agonius catapharactus* (Teleostei). **J. Zool. Lond.**, 210<sup>a</sup>: 551-574, 1986.
- WHITEAR, M & ZACCONE, G. Fine structure and histochemistry of club cells in the skin of three species of eel. **Z. Mikrosk. Anat. Forsch.**, 98: 481-501, 1984.
- YAMADA, J., A. Morphochemical Analysis of mucosubstances in some epithelial tissues of the eel (*Anguilla japonica*). **Histochem.**, 43: 161-172, 1975.
- YAMADA, K. & YOKOTE, M. Morphological analysis of mucosubstances in some epithelial tissues of the eel (*Anguilla japonica*). **Histochem.**, 43: 161-172, 1975.
- YASUMA, A. & ICHIKAWA, T. The Ninhydrin-Schiff and Alloxan-Schiff staining method. A new histochemical method for protein. **J. Lab. Clin. Med.**, 41: 296-306, 1953.
- YOKOTA, S. & TAMURA, O.S. Fine structure of the skin of the amphibious fishes, *Boleophthalmus pectinirostris* end *Periophthalmus cantonensis*, with special reference to the location of blood vessels. **J. Morphol.** 214: 287-297, 1992.