

ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ULTRAESTRUTURAIS DO ESPERMATOZÓIDE DE *Curimata inornata* VARI, 1989 (PISCES, TELEOSTEI) DO RIO AMAZONAS.

Edilson MATOS¹, Patricia MATOS², Márcia N. S. SANTOS², Carlos AZEVEDO³

RESUMO — Estão descritos aspectos morfológicos e ultraestruturais do espermatozóide de *Curimata inornata* Vari, 1989 (Pisces, Teleostei) observados com microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão. O espermatozóide é constituído de cabeça, contendo um núcleo ovoide com cromatina granular densa, uma peça intermediária curta e uma cauda com a constituição axonêmica clássica de microtúbulos de 9p+2.

Palavras chave: Ultraestrutura, espermatozóide, peixe amazonico, teleósteo.

Morphological and Ultrastructural Aspects of the Spermatozoon of *Curimata inornata* Vari, 1989 (Pisces, Teleostei) from the Amazon River.

ABSTRACT — Morphological and ultrastructural aspects of the spermatozoon of *Curimata inornata* Vari, 1989 (Pisces, Teleostei) is described by light and transmission electron microscopy. the spermatozoon head contains a nucleus ovoid-shaped, with granular chomatin electron dense, a short middle piece and a tail, with the classic 9+2 axoneme.

KEY WORDS: Ultrastructure, Spermatozoon, Amazonian Fish, Teleost.

INTRODUÇÃO

A estrutura de espermatozóides de várias classes de vertebrados tem sido estudada, sendo a maior diversidade encontrada em peixes, embora menor nestes animais quando comparada com os invertebrados (Baccetti, 1970; Mattei *et al.*, 1989). A cabeça do espermatozóide pode apresentar diversas formas, tais como, ligeiramente alongada, achatada ou ovóide (Matos e Azevedo, 1989; Lahnsteiner and Patzner, 1990). Espermatozóides com ou sem acrosoma (Baccetti, 1970), com um ou dois flagelos (Mattei, 1988; Matos e Azevedo, 1989; Mattei *et al.*, 1989; Jamieson, 1991).

Observações nos testículos de peixes tem revelado que a maioria dos teleósteos apresenta a gonada masculina

par, com ductos espermáticos separados (Barlow *et al.*, 1968). Conforme a morfologia apresentada, o espermatozóide pode ser considerado como do tipo clássico, primitivo ou modificado. No presente estudo observamos os aspectos morfológicos e ultraestruturais do espermatozóide de *Curimata inornata*, com a finalidade de determinar o tipo em que se enquadra, após observações do seu ciclo spermatogênico.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes de coaca *Curimata inornata* Vari, 1989 foram coletados nos braços do rio Peixe Boi (01° 11'30" S 47° 18' 54" W) durante o período em que se processa o amadurecimento gonadal. Fragmentos dos testículos foram fixados em glutaraldeído a 3% tamponado com

¹ Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Departamento de Biologia Animal, Histologia e Embriologia, Av. Tancredo Neves S/N, 66.077-530, Belém - Pará.

² Universidade Federal do Pará, Departamento de Histologia e Embriologia, 66.059-900, Belém - Pará.

³ Universidade do Porto, ICBAS - Departamento de Biologia Celular, 4.050, Porto - Portugal.

cacodilato de sódio 0,1M pH 7,2 a 4°C durante 2 horas. Após lavagem no mesmo tampão, durante 2-3 horas a 4°C, os fragmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2% tamponado também em cacodilato de sódio a 4°C durante 2 horas. O material foi desidratado em série crescente de álcool etílico, seguido de 3 trocas de óxido de propileno. A inclusão foi feita em Epon, os cortes semifinos e ultrafinos em ultramicrotomo com faca de diamante, e a dupla contrastação com solução aquosa saturada de acetato de uranila e citrato de chumbo (Azevedo *et al.*, 1985). Os cortes foram examinados e fotografados ao microscópio eletrônico de transmissão JEOL 100 CXII operando a 60 Kv. Alguns fragmentos de testículo foram pressionados entre lamina de vidro com glutaraldeído a 3% tamponado com cacodilato de sódio 0,1M pH 7,2, e fixados nesta solução a 4°C durante 2 horas e após mantidos em tampão cacodilato de sódio, montados entre lamina / lamínula e observados em microscópio óptico equipado com contraste de interferência de fase Nomarski (DIC).

RESULTADOS

O espermatozóide de coaca *Curimata inornata* Vari, 1989 apresenta uma organização típica do tipo primitivo, relativamente simples, dividido em cabeça sem acrosoma, peça intermediária mal definida e cauda (Fig. 1).

Durante o processo de maturação gonadal observa-se que o testículo apresenta túbulos seminíferos contendo cistos espermáticos delimitados por camada única de células, correspondentes às de Sertoli. Observa-

se que as células germinativas desenvolvem sincronicamente dentro dos cistos os estágios da espermatogênese, os quais podem ser facilmente identificados (Figs. 2 e 3). O núcleo apresenta-se ligeiramente ovóide coberto por um envoltório nuclear, com contornos levemente irregulares, mitocôndrias e uma bainha citoplasmática que vai se afinando em direção a cauda (Fig. 4). A fossa nuclear abriga o complexo centriolar, e o centríolo distal forma o corpo basal do axonema. O colar mitocondrial envolve o flagelo, ficando completamente separado dele pela região citoplasmática.

O axonema é coberto pela membrana plasmática, apresentando flagelo do tipo 9p + 2 (Fig. 5).

DISCUSSÃO

O estudo de espermatozóides de peixes teleosteos em microscopia eletrônica de transmissão tem demonstrado características morfológicas importantes, podendo inclusive contribuir para a identificação de diferentes espécies (Mattei, 1991; Gwo and Arnold, 1992; Gwo *et al.*, 1992), assim como também pode ser usado para propósitos taxonômicos (Jamieson, 1991; Mattei, 1991). A descrição da ultraestrutura dos espermatozóides tem provado ser de valor filogenético em muitos grupos de animais (Healy, 1987; Jamieson, 1989; Jamieson and Rouse, 1989). Aspectos ultraestruturais dos espermatozóides de peixes mostram pequenas diferenças entre estes, especialmente no que diz respeito ao núcleo e fossa nuclear, número de mitocôndrias (Gwo *et al.*, 1993), assim como a região do corpo basal de espermatozóides de vertebrados

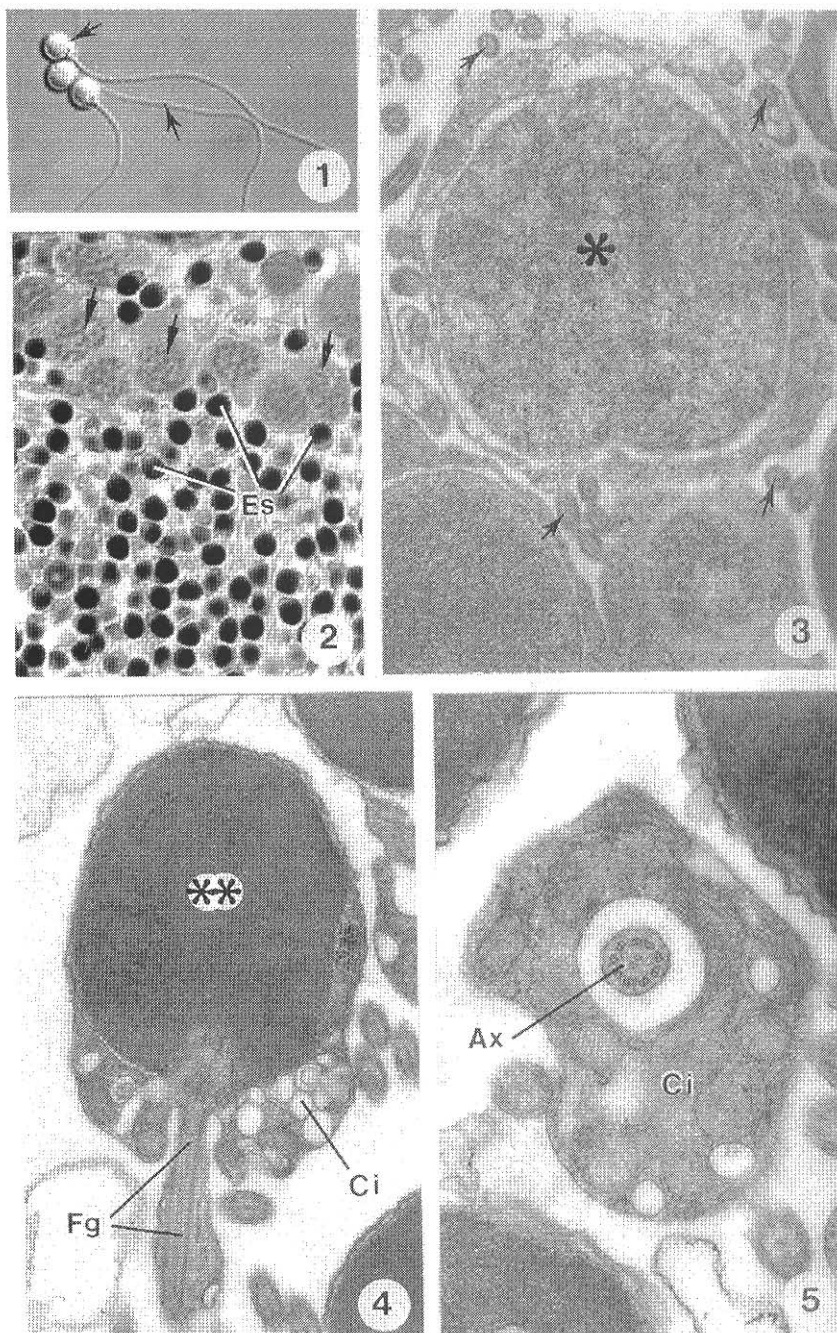


Figura 1. Espermatozoides de *Curimata inornata* observados em microscopia de contraste de fase diferencial (DIC) (Nomarski). X 1525.

Figura 2. Corte semifino de gonada de *Curimata inornata* mostrando espermatócitos (setas) e espermatozoides (Es). X 1400.

Figura 3. Corte ultrafino de espermátide (*) e cortes transversais de flagelos (setas). X 14000.

Figura 4. Corte ultrafino de espermatozoides (**) com núcleo denso, citoplasma basal (Ci) e o flagelo (Fg). X 15200.

Figura 5. Corte transversal de flagelo mostrando o axonema (Ax). À sua volta observa-se o citoplasma (Ci). X 32000.

(Anderson, 1972; Wheatley, 1982). As projeções laterais citoplasmáticas são raramente descritas em espermatozoides de peixes teleósteos, assim como estruturas citoplasmáticas que possam estar envolvendo o complexo centriolar, e de natureza desconhecida, ou também quanto ao flagelo, onde todas estas estruturas são pouco mencionados na morfologia dos espermatozoides de peixes (Grier, 1973, 1976; Lahnsteiner *et al.*, 1991). Estes fatos justificam a investigação ultraestrutural em várias espécies, onde diferenças morfológicas, tem importante significado funcional e evolutivo (Gwo, 1995). Os aspectos morfológicos e ultraestruturais do espermatozoide de *Curimata inornata* caracterizam-no como do tipo primitivo após observações do seu ciclo espermato gênico (Billard, 1983; Lou & Takahashi, 1989; Matos *et al.*, 1993)

AGRADECIMENTOS

Ao Dr Heraldo Britski do Museu de Zoologia da USP pela identificação da espécie. Ao Sr João Carvalheiro pelo trabalho iconográfico. Trabalho parcialmente subsidiado pela JNICT e IMAR (Portugal), FCAP e UFPA.

Bibliografia citada

- Anderson, R.G.W. 1972. The three-dimensional structure of the basal body from the rhesus monkey oviduct. *J. Cell. Biol.*, 54: 246-265.
- Azevedo, C.; Lobo-da-Cunha, A.; Oliveira, E. 1985. Ultrastructure of the spermatozoon in *Gibulla umbilicalis* (Gastropoda, Prosobranchia) with special reference to acrosomal formation. *J. Submicrosc. Cytol.*, 17: 609-614.
- Baccetti, B. 1970. *Comparative Spermatology*. Academic Press, New York, New York.
- Barlow, G.F.; Liem, K.F.; Wickler, W. 1968. *Badidae*, a new fish family: behavioural, osteological and development evidence. *Zoology* (London) 156: 415-447.
- Billard, R. 1983. Ultrastructure of trout spermatozoa: changes after dilution and deep freezing. *Cell. Tissue Res.*, 228: 205-218.
- Grier, H.J. 1973. Ultrastructure of the testis in the teleost *Poecilia latipinna* spermiogenesis with reference to the intercentriolar lamellated body. *J. Ultrastruct. Res.*, 45: 82-92.
- Grier, H.J. 1976. Sperm development in teleost *Oryzias latipes*. *Cell. Tissue Res.*, 168: 419-431.
- Gwo, J.C. 1995. Spermatozoan ultrastructure of the teleost fish *Acanthopagrus latus* (Perciformes: Sparidae) with special reference to the basal body. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 27: 391-396.
- Gwo, J.C.; Arnold, C.R. 1992. Cryopreservation of Atlantic croaker spermatozoa: evaluation of morphological changes. *J. Exp. Zool.*, 264: 444-453.
- Gwo, J.C.; Gwo, H.H.; Chang, S.L. 1992. The spermatozoon of the Japanese eel, *Anguilla japonica* (Teleostei, Anguilliformes, Anguillidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 24: 571-574.
- Gwo, J.C.; Gwo, H.H.; Chang, S.L. 1993. The ultrastructure of *Acanthopagrus schlegelii* spermatozoon. *J. Morphol.*, 216: 29-33.
- Healy, J. M. 1987. Spermatozoon ultrastructure and its bearing on gastropod classification and evolution. *Anat. Zool.*, 24: 108-113.
- Jamieson, B.G.M. 1989. A comparison of the spermatozoa of *Oratosquilla stenphensoni* and *Squilla mantis* (Crustacea, Stomatopoda) with comments on the phylogeny of the Malacostraca. *Zool. Scr.*, 18: 509-517.
- Jamieson, B.G.M. 1991. *Fish evolution and Systematics: evidence from spermatozoa*. Cambridge University Press, pp 319, Cambridge.
- Jamieson, B.G.M.; Rouse, G.W. 1989. The spermatozoa of the polychaeta (Annelida): An ultrastructural review. *Biol. Ver.*, 64: 93-157.
- Lahnsteiner, F.; Patzner, R. A. 1990. Spermiogenesis and structure of mature spermatozoa in blennioid fishes (Pisces, Blenniidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 22: 565-576.

- Lahnsteiner, F.; Patzner, R.A.; Weismann, T. 1991. The fine structure of spermatozoa of the grayling, *Thymallus thymallus* (Pisces, Teleostei). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 23: 373-377.
- Lou, Y.H.; Takahashi, H. 1989. Spermiogenesis in the Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* with notes a unique pattern of nuclear chromatin condensation. *J.Morph.*, 200: 321-330.
- Matos, E.; Azevedo, C. 1989. Ultraestrutura da espermatogênese de *Lepidosiren paradoxa* (Pisces, Dipnoi) na Amazonia. *Rev. bras.Ciê.n.morfol.* 6: 67-71.
- Matos, E.; Matos, P.; Oliveira, E.; Azevedo, C. 1993. Ultraestrutura da espermatogênese do tamoatá *Hoplosternum littorale* (Hancock)(Teleostei, Callichthyidae) do rio Amazonas. *Revta.bras.Zool.*, 10: 215-218.
- Mattei, X. 1988. The flagellar apparatus of spermatozoa in fish. Ultrastructure and evolution. *Biology of the Cell.*, 63: 151-158.
- Mattei, X.; Thiam, D.; Thaw, O.T. 1989. Le spermatozoïde de *Ophidion* sp. (Poisson, Téléostéen): Particularities ultrastructurales du flagelle. *J. Ultrastr. Molec. Struct.Res.*, 102: 162-169.
- Mattei, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. *Can. J. Zool.*, 69: 3038-3055.
- Wheatley, D.N. 1982. *The centriole : A central enigma of cell biology*. Elsevier. Amsterdam.

Aceito para publicação em 18.03.98