

**ASPECTOS ULTRA-ESTRUTURAIS DO ESPERMATOZÓIDE
DE *Hoplerythrinus unitaeniatus* SPIX, 1829 (PISCES,
TELEOSTEI, ERYTHRINIDAE) DA REGIÃO AMAZÔNICA¹**

**Edilson MATOS²
Márcia N. S. SANTOS³
Laura CORRAL⁴
Carlos AZEVEDO⁵**

RESUMO : Aspectos morfológicos e ultra-estruturais de células espermáticas em diferentes estágios e do espermatozóide de *Hoplerythrinus unitaeniatus* Spix, 1829 (Pisces, Teleostei) estão descritos com auxílio de microscopia óptica e eletrônica. O espermatozóide apresenta-se constituído de cabeça, contendo um núcleo ovóide ligeiramente achatado, com cromatina granular eletrodensa, uma pequena peça intermediária e uma cauda com formação axonêmica clássica de 9p + 2 de microtúbulos.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Ultra-estrutura, Espermatozóide, Peixe Amazônico, Teleosteo.

**ULTRASTRUCTURAL ASPECTS OF THE SPERMATOZOON
OF *Hoplerythrinus unitaeniatus* SPIX, 1829 (PISCES, TELEOSTEI,
ERYTHRINIDAE) FROM THE AMAZON REGION**

ABSTRACT: Morphological and ultrastructural aspects of the spermatozoon of *Hoplerythrinus unitaeniatus* Spix, 1829 (Pisces, Teleostei) were described by light and transmission electron microscopy. The spermatozoon head contains a nucleus ovoid-shaped, with electron dense granular chromatin, a short midpiece and a tail, whose axoneme has the classic 9p + 2 microtubular construction.

INDEX TERMS: Ultrastructure, Spermatozoon, Amazonian Fish, Teleost.

¹ Aprovado para publicação em 30 de junho de 1999.

² Professor Titular de Histologia e Embriologia da FCAP.

³ Bióloga, Departamento de Histologia e Embriologia da Universidade Federal do Pará.

⁴ Técnica em Microscopia Eletrônica da Universidade do Porto, ICBAS – Departamento de Biologia Celular – Portugal.

⁵ Biólogo, Professor Catedrático da Universidade do Porto, ICBAS – Departamento de Biologia Celular - Portugal.

1 - INTRODUÇÃO

Os espermatozóides de peixes teleósteos mostram grande variação na organização (Billard, 1986). Algumas espécies de teleósteos apresentam forma especial de desenvolvimento e produção espermática, inclusive as células testiculares não se diferenciam diretamente em espermatozóides nos túbulos seminíferos, pois são liberadas em glândulas testiculares (Lahnsteiner & Patzner, 1990 a), que estão localizadas adjacentes ao testículo (Eggert, 1931). A diferenciação da espermátide para espermatozóide pode ocorrer nos dutos espermáticos (Lahnsteiner & Patzner, 1990 b). A função das glândulas testiculares e dos ductos espermáticos no estabelecimento dos processos de diferenciação e nutrição das células germinais foi demonstrada recentemente (Lahnsteiner et al., 1990; Lahnsteiner & Patzner, 1990 a). A forma estudada mostra evidências de que a espermiogênese pode apresentar diferenças interespecíficas, as quais podem ser correlacionadas a variações na morfologia das gônadas (Lahnsteiner et al., 1990), necessitando-se de melhor investigação quanto a este aspecto. O presente trabalho apresenta estudo ultra-estrutural do espermatozóide de *Hoplerythrinus unitaeniatus*.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 exemplares adultos do peixe *Hoplerythrinus unitaeniatus* Spix, 1829 colhidos na região da cidade de Peixe Boi (1°11'30"S 47°18'54"W) no decorrer do ano. Depois de retirada a gônada masculina, pequenos fragmentos foram observados em microscopia óptica para confirmação de que se tratava da gônada, e, imediatamente, fixados para microscopia eletrônica, em glutaraldeído a 3% tamponado

com cacodilato de sódio a 0,2M, pH 7,2, durante 3 horas a 4°C. Depois de lavados no mesmo tampão, durante duas horas a 4°C, os fragmentos foram pós-fixados durante duas horas a 4°C, em tetróxido de ósmio a 2% devidamente tamponado. Sequencialmente, os fragmentos foram desidratados em série crescente de álcool, seguida de três passagens em óxido de propileno. O material foi incluído em Epon (Matos et al., 1993 a). As observações foram feitas em cortes semifinos e em cortes ultrafinos, contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e observados em microscópio eletrônico JEOL 100CXII operando a 60 Kv. Alguns fragmentos de testículo foram pressionados entre lâminas de vidro com glutaraldeído a 3% tamponado com cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, e fixados nesta solução a 4°C durante duas horas e após mantidos em tampão de cacodilato de sódio, montados entre lâmina/lâminula e observados em microscopia óptica equipado com contraste de interferência de fase Nomarski (DIC).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espermatozóide de *H. unitaeniatus* apresenta cabeça arredondada com ausência de acrossomo (Figs. 1 e 2), fato este que é típico nos peixes teleósteos (Figs. 3, 4 e 5). A peça intermediária contém entre 10-12 mitocôndrios dispostos na parte basal do núcleo e, preferencialmente, do lado do flagelo (Fig. 5). A posição dos centríolos é um pouco excêntrica em relação ao eixo do núcleo, devido estarem localizados em uma fossa nuclear lateral (Fig. 5). O flagelo apresenta o axonema do tipo comum 9p+2. Uma vesícula projeta-se paralelamente ao flagelo e ao longo do seu primeiro terço (Figs. 3, 5, 6 e 7). Esta vesícula parece resultar do prolongamento do material

da peça intermediária (Figs. 5 e 6), mas esteve evidente apenas durante a fase de espermátide, visto que, no espermatozóide maduro, esta vesícula desaparece (Figs. 4 e 8). Durante o período de maturação celular verifica-se a condensação da cromatina nuclear. As espermátides estão ligadas entre si por pontes citoplasmáticas que se desfazem com a maturação (Figs. 9,10 e 11).

Características da condensação cromatínica ou de modificações das membranas da cabeça de espermatozóides de peixes teleósteos têm sido descritas (Matos et al.,1995; Azevedo & Corral, 1983; Ohta et al.,1993). A observação da maneira característica de condensação da cromatina nuclear é importante devido à sua distribuição em espermatozóides de outros peixes (Lou & Takashi, 1989), entretanto, não deve ser tomada como dado importante para a fertilização, quando as observações são realizadas apenas em uma espécie. Espermatozóides de outras espécies apresentam-se fundamentalmente constituídos de uma cabeça arredondada, peça intermediária com organelas citoplasmáticas e cauda com axonema típico (Matos et al.,1993 a e b; Matos et al., 1995; Azevedo & Corral, 1983; Grier, 1975; Baccetti et al.,1984; Ohta et al., 1993; Thiraw et al.,1990). Em trabalhos de revisão, onde é enfocada a biologia espermática, correspondendo ao estudo comparativo de ginada hermafrodita, a espermatogênese e a diversidade de morfologia dos espermatozóides (Maxwell,1983) são estudados, apresentando a comparação morfológica reprodutiva,

incluindo a morfologia espermática e a biologia da fertilização (Tompa,1984). No presente estudo, são analisados aspectos morfológicos do espermatozóide de *H. unitaeniatus*, com especial referência à porção da peça intermediária, da porção caudal e a maneira especial da condensação cromatínica nuclear.

4 - CONCLUSÃO

O espermatozóide de *H. unitaeniatus* apresenta cabeça arredondada, com ausência de acrossomo. A peça intermediária apresenta-se constituída por 10-12 mitocôndrias, localizadas na região basal nuclear e ao lado do flagelo, mostrando ainda posição excêntrica dos centríolos em relação ao eixo nuclear devido à localização em fossa nuclear lateral. Durante o processo de diferenciação do espermatozóide, observa-se o aparecimento de uma vesícula lateral ao flagelo no primeiro terço, presente até a fase de espermátide, e que desaparece na fase de amadurecimento do espermatozóide, quando se observa condensação cromatínica nuclear. O flagelo apresenta o axonema do tipo comum 9p+2.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. HERALDO BRITSKI do Museu de Zoologia da USP pela identificação da espécie. Ao Sr. JOÃO CARVALHEIRO pelo serviço iconográfico. Trabalho parcialmente subsidiado pela Universidade do Porto, FCAP, UFPA e Fundação Engº António de Almeida (Portugal).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, C., CORRAL, L. Estudo ultraestrutural da espermiogênese em *Xiphophorus helleri* (Teleosteo, Vivíparo). **Folia Anatomica Universitatis Conimbrigensis**, v.48, p. 45-70, 1983.
- BACCETTI, B., BURRINI, A.G., CALLAINI, G., GILBERTINI, G. MAZZINI, M., ZERUNIAN, S. Fish germinal cells. I. Comparative spermatology of seven cyprinid species. **Gamete Res.**, v.10, p. 373-396, 1984.
- BILLARD, R. Spermiogenesis and spermatology of some teleost fish species. **Reprod. Nutr. Dev.**, v. 26, p. 877- 920, 1986.
- EGGERT, B. Die geschlechtsorgane der Gobiiformes und Blenniiformes. **Z. Wiss. Zool.**, v. 139, p. 249-558, 1931.
- GRIER, H. J. Spermiogenesis in the teleost *Gambusia affinis* with particular reference to the role played by microtubules. **Cell Tissue Res.**, v. 165, p. 89-102, 1975.
- LAHNSTEINER, F., PATZNER, R.A. The function of the testicular gland *in* benniid fish (Teleostei: Blenniidae): structural and histochemical investigation. **Experientiae**, v. 46, p.1005-1007, 1990a.
- _____, _____. The spermatic duct of benniid fishes (Teleostei: Blenniidae): fine structure, histochemistry and function. **Zoomorphology**, v. 110, p. 63-73, 1990b.
- _____, RICHTARSKI, U., PATZNER, R.A. Functions of the testicular gland in two blenniid fish, *Salaria* (=Blennius) *pavo* and *Lipophrys* (=Blennius) *dalmatinus* (Blenniidae,Teleostei) as revealed by electron microscopy and enzyme histochemistry. **J. Fish Biol.**, v. 37, p.85-97, 1990.
- LOU, Y.H., TAKAHASHI,H. Spermiogenesis in the Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* with notes a unique pattern of nuclear chromatin condensation. **J. Morph**, v. 200, p. 321-330, 1989.
- MATOS, E., MATOS, P., OLIVEIRA E., AZEVEDO, C. Ultraestrutura do espermatozóide do pacu *Metynnis maculatus* Kner,1960 (Pisces, Teleostei) do rio Amazonas. **Rev. Bras. Ciên. Morfol.**, v.10, p. 7-10, 1993a.
- _____, _____, _____, _____, _____, _____, CORRAL, L., _____. Ultraestrutura da espermatogênese do tamoatá, *Hoplosternum littorale* (Hancock) (Teleostei, Callichthyidae) do rio Amazonas. **Rev. Bras. Zool.**, v.10, p. 219-227, 1993b.
- _____, _____, CORRAL, L., _____. Ultrastructural study of the spermatozoon of *Crenicichla saxatilis* Linnaeus,1758 (Pisces, Teleostei) from the Amazon River. **Braz. J. Morphol. Sci.**, v.12, p.109-114, 1995.
- MAXWELL, W.L. Mollusca. Spermatogenesis and sperm function. In : ADIYODI, K. G. (Ed.), ADIYODI, R. G. (Ed.). **Reproductive biology of invertebrates**. Chichester: J. Wiley, 1983. v. 2, p. 275-319.
- OHTA, T., KATO, K.H., ABE, T., TAKEUCHI, T. Sperm morphology and distribution of intramembranous particles in the sperm heads of selected freshwater teleosts. **Tissue and Cell.**, v. 25, p. 725-735, 1993.
- THIAW, D., THIAM, D., MATTEI, X. Extension of proximal centriole in a teleost fish spermatozoon. **J. Submicrosc. Cytol. Pathl.**, v. 22, p. 357-360, 1990.
- TOMPA, A . S. Land snails (Stylommatophora). In: TOMPA, A. S. (Ed.), VERDONK, N. H. (Ed.), BIGGELAAR, J. A. M. van den (Ed.). **The Mollusca**. New York: Academic Press, 1980. v. 7, p. 47-140.

ANEXOS

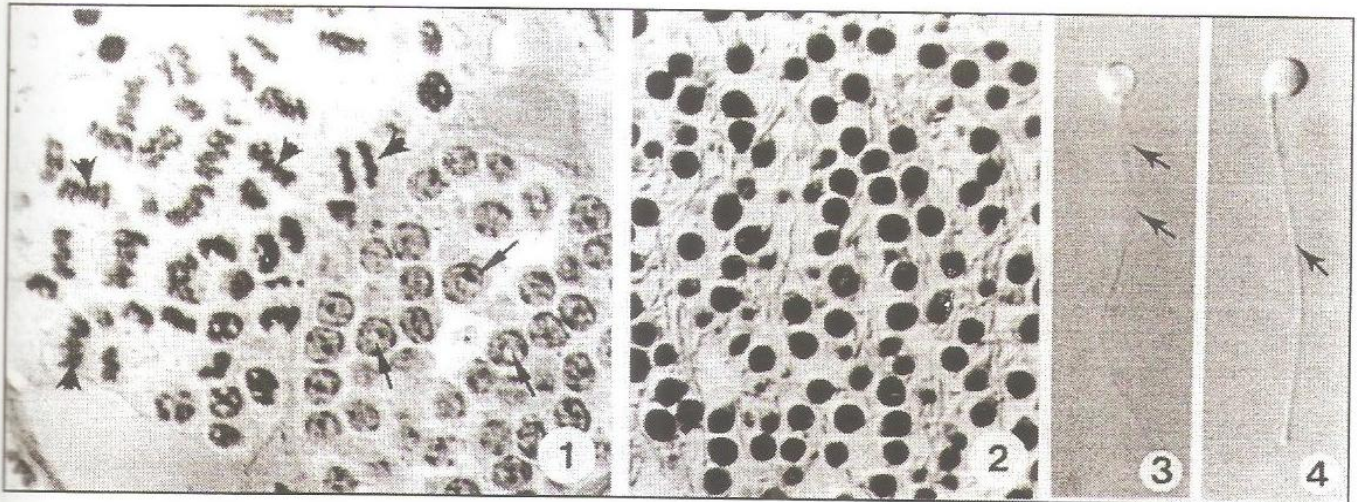


Fig. 1 - Corte semifino de dois cistos testiculares com células em diferentes estágios. Observam-se espermatócitos I (cabeças de seta) e espermátides (setas) . DIC . X 1525.

Fig. 2 - Corte semifino de espermatozoides. X 1525.

Fig. 3 e 4 - Fases consecutivas da espermiogênese observadas ao microscópio DIC (Nomarski). Na fase de espermátide tardia verifica-se a existência de uma vesícula na primeira porção do flagelo (setas), desaparecendo na fase de espermatozóide (seta). X 1525.

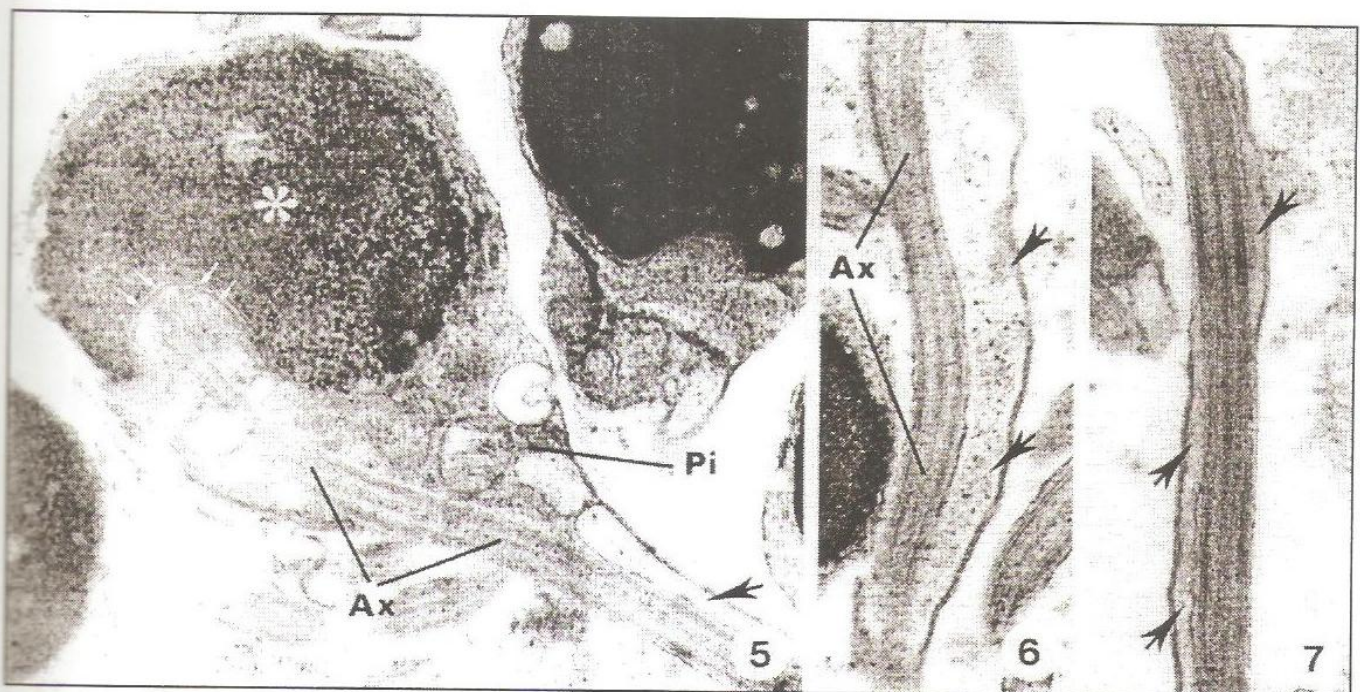


Fig. 5 - Ultra-estrutura de uma espermátide tardia. Núcleo (*), fossa nuclear (duplas setas), peça intermediária (Pi), axonema (Ax), vesícula (seta). X 26500

Fig. 6 - Corte longitudinal da primeira porção do flagelo, onde se pode observar o axonema (Ax) e a vesícula (setas). X 26000.

Fig. 7 - Aspecto ultra-estrutural do flagelo onde a vesícula se encontra enrolada em hélice (setas). X 26000



Fig. 8 - Corte longitudinal do flagelo (Ax), verificando-se o desaparecimento da vesícula. X 32000.
Fig. 9 - Ultra-estrutura de várias espermatídes em corte transversal (*) estando visíveis as mitocôndrias (cabeças de seta), axonema ao nível da vesícula (setas) e cortes de flagelo sem vesícula (Fg). X 16000.

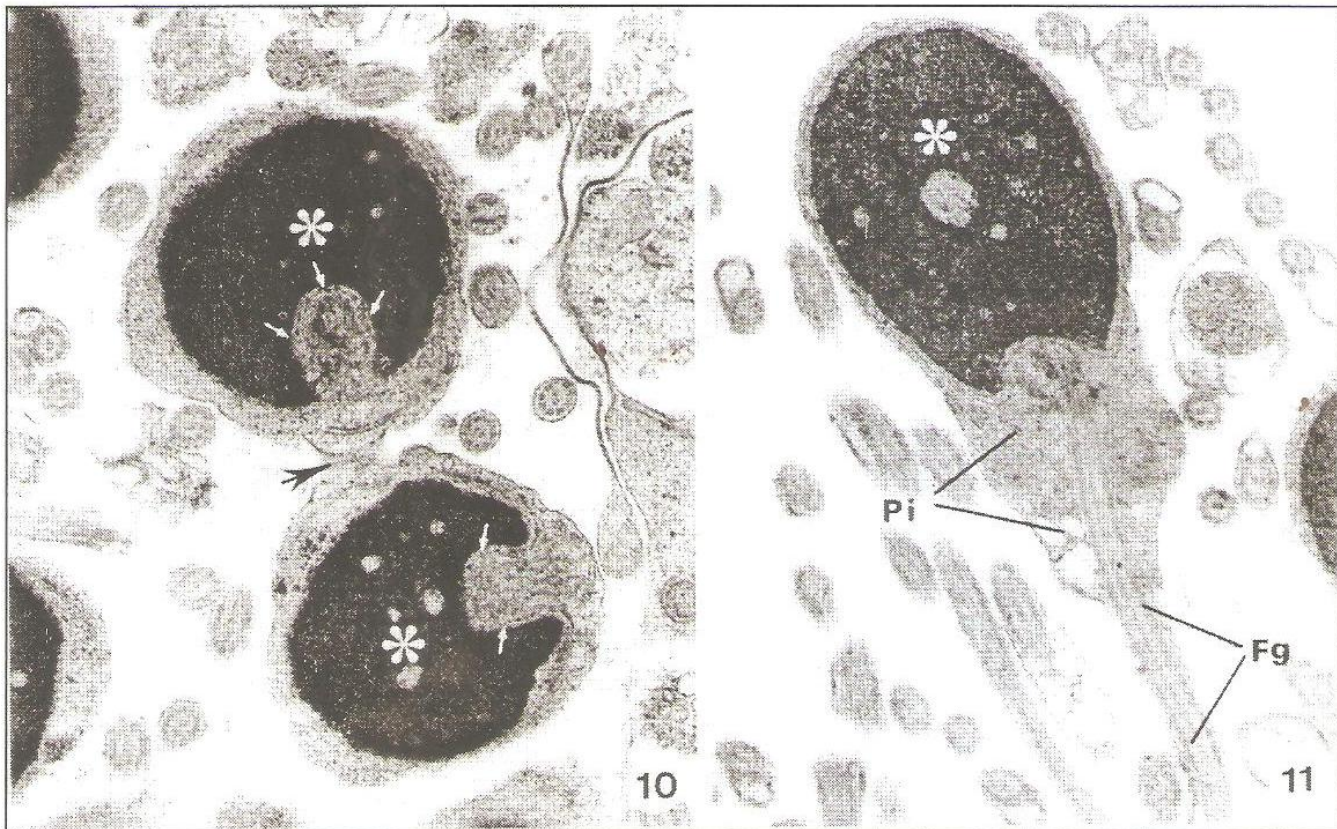


Fig. 10 - Aspecto de corte transversal de dois núcleos de espermatídes (*), fossa nuclear (setas) e a existência de ponte citoplasmática ligando as duas células (seta). X 20000.
Fig. 11 - Aspecto ultra-estrutural do espermatozóide maduro e alguns cortes transversais de flagelos de outros espermatozóides. Núcleo (*), peça intermediária (Pi), flagelo (Fg). X 20000.

