

# ULTRA-ESTRUTURA DO ESPERMATOZÓIDE DE *Crenicara punctulatum* (Günther, 1863) (TELEOSTEI, CICHLIDAE) DA REGIÃO AMAZÔNICA<sup>1</sup>

Edilson MATOS<sup>2</sup>  
Carla BATISTA<sup>3</sup>  
Patricia MATOS<sup>4</sup>  
Carlos AZEVEDO<sup>5</sup>

**RESUMO:** O espermatozóide de *Crenicara punctulatum* foi analisado em microscopia óptica e microscopia eletrônica. O espermatozóide não apresenta acrossomo, a cabeça é de aspecto ovóide, e a região da peça intermediária é de forma cilíndrica. O complexo centriolar está localizado lateralmente ao núcleo. O flagelo consiste de nove pares periféricos de microtúbulos e um par central.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** Ultra-estrutura, Espermatozóide, Peixe Teleósteo, Região Amazônica.

## ULTRASTRUCTURE OF THE SPERMATOZOON OF *Crenicara punctulatum* (TELEOSTEI, CICHLIDAE) FROM THE AMAZON BASIN OF BRAZIL

**ABSTRACT:** Spermatozoon of *Crenicara punctulatum* was investigated by light and electron microscopy. The spermatozoon had no acrosome, showed an ovoid head and a cylindrical midpiece region. The centriolar complex is located at the lateral side of the nucleus. The flagellum consists of nine pairs of peripheral and two central microtubules.

**INDEX TERMS:** Teleost, Pisces, Amazonian Region, Ultrastructure, Spermatozoon.

### 1 INTRODUÇÃO

O estudo dos espermatozóides de peixes é de grande importância a nível taxonômico, permitindo, também, a comparação filogenética entre espécies

afins. A estrutura fina de espermatozóide em peixes revela diferenças morfológicas e ultra-estruturais entre as espécies. A organização estrutural de espermatozóides na grande maioria de peixes teleósteos,

<sup>1</sup> Aprovado para publicação em 26.12.2002

<sup>2</sup> Professor Titular da FCAP, Departamento de Biologia Animal, Av. Tancredo Neves, nº 2501, Terra Firme, CEP: 66.077-530, Belém, Pará, Brasil.

<sup>3</sup> Bióloga, M.Sc., Professora do Instituto de Ciências Superior do Norte – Paredes, Portugal.

<sup>4</sup> Bióloga, M.Sc., Professora Assistente da UFPA, Departamento de Histologia e Embriologia, Belém, Pará, Brasil.

<sup>5</sup> Biólogo, Dr., Professor Catedrático, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Portugal

especialmente em espécies marinhas, é conhecida por apresentar características específicas ou completamente desconhecidas (JAMIESON, 1991) e em peixes de água doce na Amazônia, através publicações de Cruz-Landim e Hofling, 1986, Matos e Azevedo, 1989; Matos et al, 1993, 1998 e 2000. O presente estudo descreve a organização ultra-estrutural do espermatozóide de *Crenicara punctulatum*, anteriormente desconhecida.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 machos adultos de *Crenicara punctulatum*, peixe teleósteo, coletados na região do município de Peixe Boi (PA) (1° 11' 30" S 47° 18' 54" W) durante todos os meses do ano. Depois da retirada da gônada masculina, pequenos fragmentos foram preparados para visualização das estruturas microscópicas em microscopia de luz e microscopia eletrônica.

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. Após mantidos em tampão de cacodilato de sódio, foram montados entre lâmina/lâminula e observados em microscopia de luz equipado com contraste de interferência de fase Nomarski (DIC). Os outros fragmentos da gônada foram fixados em glutaraldeído a 3%, tamponado com cacodilato de sódio a 0,2M, pH 7,2, durante tres 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. Seqüencialmente, 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). 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.

## 3 RESULTADOS

Durante o processo de maturação gonadal, observa-se que o testículo de *C. punctulatum* apresenta túbulos seminíferos contendo cistos espermáticos delimitados por camada única de células, correspondente às de Sertoli, sendo o espermatozóide constituído de três regiões, cabeça, peça intermediária e cauda. O núcleo apresenta-se ligeiramente ovóide, coberto por um envoltório nuclear (Figuras 1, 4 e 5), com contornos levemente irregulares, cromatina densa de aspecto floculenta (Figuras 5), peça intermediária de forma cilíndrica contendo 6 a 7 mitocôndrias (Figuras 1,4), e cauda alongada iniciando-se na parte central da peça intermediária, com microtúbulos característicos do flagelo do tipo axonêmico 9+2, com alargamentos laterais citoplasmáticos (Figuras 7 e 8).

A observação de espermátides e espermatozóides de *C. punctulatum* em microscopia eletrônica de transmissão revela um processo de espermiogênese idêntico ao de outros teleósteos, com densificação gradual da cromatina nuclear, ausência de acrossomo, mitocôndrias dirigindo-se para a peça intermediária e formação do flagelo (Figuras 1 a 5). No entanto, observa-se a formação de uma estrutura pouco comum na zona da peça

intermediária. O citoplasma projeta-se paralelamente ao flagelo, originando uma cobertura em forma de capa, que rodeia a zona proximal (Figuras 1, 2, 4, 8). Esta formação não é facilmente observada em microscopia de luz, uma vez que consiste de uma membrana muito fina e transparente (Figura 3). Abaixo do nível onde se situam as mitocôndrias, observa-se um alargamento gradual do citoplasma ao longo do axonema, do qual resulta um achatamento em forma de nadadeira (Figuras 6, 7), o que também constitui um aspecto de interesse filogenético e taxonômico.

#### 4 DISCUSSÃO

O estudo ultra-estrutural dos testículos de teleósteos, devido a aspectos pouco precisos e confusos pela terminologia variada à descrição de estruturas celulares homólogas na identificação de vários tipos celulares, tem sido possível resolver com a aplicação de técnicas ultra-estruturais (MATTEI, 1970), podendo inclusive contribuir para a identificação de espécies (JAMIESON, 1991).

Na organização do espermatozóide dos peixes teleósteos, existem grandes diferenças estruturais (MATTEI; MATTEI, 1974). Em geral, o espermatozóide que utiliza fertilização interna pode ser caracterizado pelo alongamento do núcleo, bem desenvolvido e com a peça intermediária de aspecto cilíndrica (BILLARD, 1970; GRIER, 1973); os espermatozóides que utilizam fertilização externa apresentam variação de forma na cabeça (esférica até alongada), com peça intermediária pequena (KOCH; LAMBERT, 1990; JAMIESON, 1991; GWO et al., 1995). Para alguns autores as

divergências na estrutura espermática são consideradas filogeneticamente, não dependendo do modo de reprodução (MATTEI; MATTEI, 1974; JAMIESON, 1991). A organização espermática de *Crenicara punctulatum* revela semelhança com espermatozóide de *Trachinus draco* e *Uranuscopus scaber* (LAHNSTEINER; PATZNER, 1996), devido à assimetria das células espermáticas, inserção lateral do flagelo, núcleo ovóide e envolvimento citoplasmático das mitocôndrias.

Estes fatos justificam a investigação ultra-estrutural em várias espécies, onde diferenças morfológicas têm importante significado funcional e evolutivo (GWO, 1995).

#### 5 CONCLUSÃO

O espermatozóide de *Crenicara punctulatum* apresenta-se constituído de três regiões: cabeça, formada por um núcleo de aspecto ovóide com cromatina de aspecto floculenta, de alta densidade eletrônica; a peça intermediária de forma cilíndrica, com 6 a 7 mitocôndrias e a presença de dois centríolos, o proximal dentro da depressão basal nuclear e o distal que dá origem ao flagelo, e a cauda alongada iniciando-se na parte central da peça intermediária, com microtúbulos flagelar do tipo axonêmico 9+2, com alargamentos laterais citoplasmáticos. A ultra-estrutura evidenciou a ausência de acrossomo.

#### AGRADECIMENTOS

Trabalho parcialmente subsidiado pela Fundação Engº António de Almeida (Porto-Portugal), FCAP e UFPA. Ao Sr. João Carvalheiro pelo serviço iconográfico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BILLARD, R. La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. IV. La spermiogenèse. Étude ultrastructurale. *Anal. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, v.10, p.493-510, 1970.
- CRUZ-LANDIM, C.; HOFLING, M. A C. Aspectos da espermatogênese de tucunaré, *Cichla ocellaris* Schneider, 1801 (Teleostei, Cichlidae). *Acta Amazonica*, v.16/17, p.65-72, 1986.
- GRIER, H.J. Aspects of germinal cyst and sperm development in *Poecilia latipinna* (Teleostei: Poeciliidae). *J. Morphol.*, v.146, p.229-250, 1973.
- GWO J.-C. Spermatozoan ultrastructure of the teleost fish *Acanthopagrus latus* (Perciformes: Sparidae) with special reference to the basal body. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, v.27, p.391-396, 1995.
- ; KAO Y.-S.; LIN X.-W.; CHANG S.-L.; SU, M.-S. The ultrastructure of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) spermatozoon (Teleostei, Gonorynchiformes, Chanidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, v.27, p.99-104, 1995.
- JAMIESON, B.G.M. *Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa*. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 319p.
- KOCH R. A.; LAMBERT C. C. Ultrastructure of sperm, spermiogenesis, and sperm-egg interactions in selected invertebrates and lower vertebrates which use external fertilization. *J. Electron Microsc. Tech.*, v.16, p.115-154, 1990.
- LAHNSTEINER, F.; PATZNER, R.A. Fine structure of spermatozoa of three teleost fishes of the Mediterranean Sea: *Trachinus draco* (Trachinidae, Perciformes), *Uranuscopus scaber* (Uranuscopidae, Perciformes) and *Synodon saurus* (Synodontidae, Aulopiformes). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, v.28, n.3, p.297-303, 1996.
- MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultraestrutura da espermatogênese de *Lepidosiren paradoxa* (Pisces; Dipnoi) na Amazônia. *Rev. Bras. Ciên. Morfol.*, v.6, p.67-71, 1989.
- ; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Estrutura fina do espermatozóide de *Acestrorhynchus falcatus* Bloch (Teleostei, Characidae) da região norte do Brasil. *Rev. Bras. Zool.*, v.17, n.3, p.747-751, 2000.
- ; ———; OLIVEIRA, E.; AZEVEDO, C. Ultraestrutura da espermatogênese do tamoatá *Hoplosternum littorale* (Hancock) (Teleostei, Callichthyidae) do rio Amazonas. *Rev. Bras. Zool.*, v.10, p. 215-218, 1993.
- ; ———; SANTOS, M.N.S.; AZEVEDO, C. Aspectos morfológicos e ultraestruturais do espermatozóide de *Curimatá inornata* VARI, 1989 (Pisces, Teleostei) do rio Amazonas. *Acta Amazonica*, v.28, n.4, p.449-453, 1998.
- MATTEI C.; MATTEI X. Spermiogenesis and spermatozoa of the Elopomorpha (Teleostei fish). In: AFZELIUS, B.A (Ed.). *The functional anatomy of the spermatozoon*. Oxford: Pergamon Press, 1974. p. 211-221.
- MATTEI, X. Spermiogenèse comparée des poissons, In: BACCETTI, B. (Ed). *Comparative spermatology*. New York: Academic Press, 1970. p. 57-84

# APÊNDICES

---

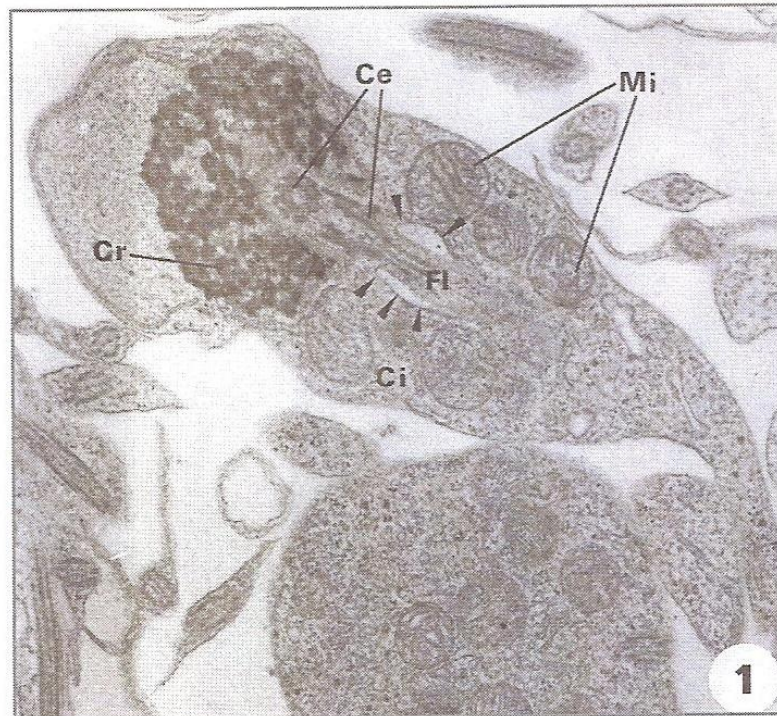


Figura 1 – Espermátide de *Crenicara punctulatum* com cromatina (Cr) em fase de condensação, rodeando parcialmente a zona dos centríolos (Ce). Note-se a projeção (setas) de uma zona do citoplasma, incluindo mitocôndrias (Mi), em direção ao flagelo (Fl). X 20 000.



Figura 2 – A formação do complexo centriolar (setas) inicia-se precocemente, na espermátide ainda muito jovem. Nu – núcleo. X 40 000.

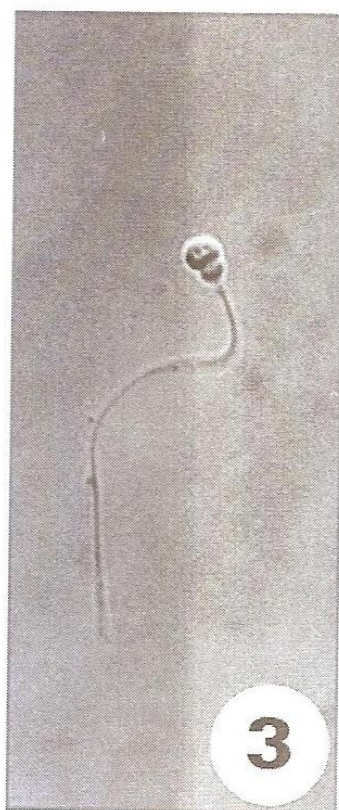


Figura 3 – Espermátide observada em microscopia óptica (DIC), evidenciando a zona da cabeça e peça intermediária. X 1 525.

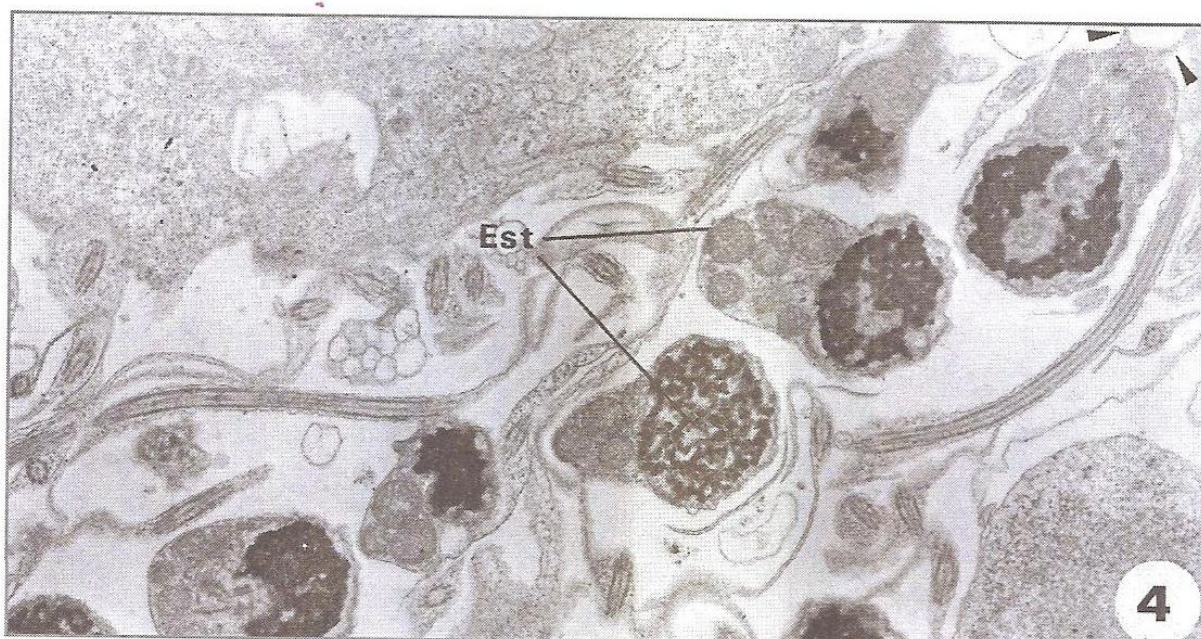


Figura 4 – Grupo de espermátides (Est) em diversos estágios de maturação. Observa-se uma redução significativa do citoplasma, inclusive na projeção em forma de capa (setas). X 10 600.

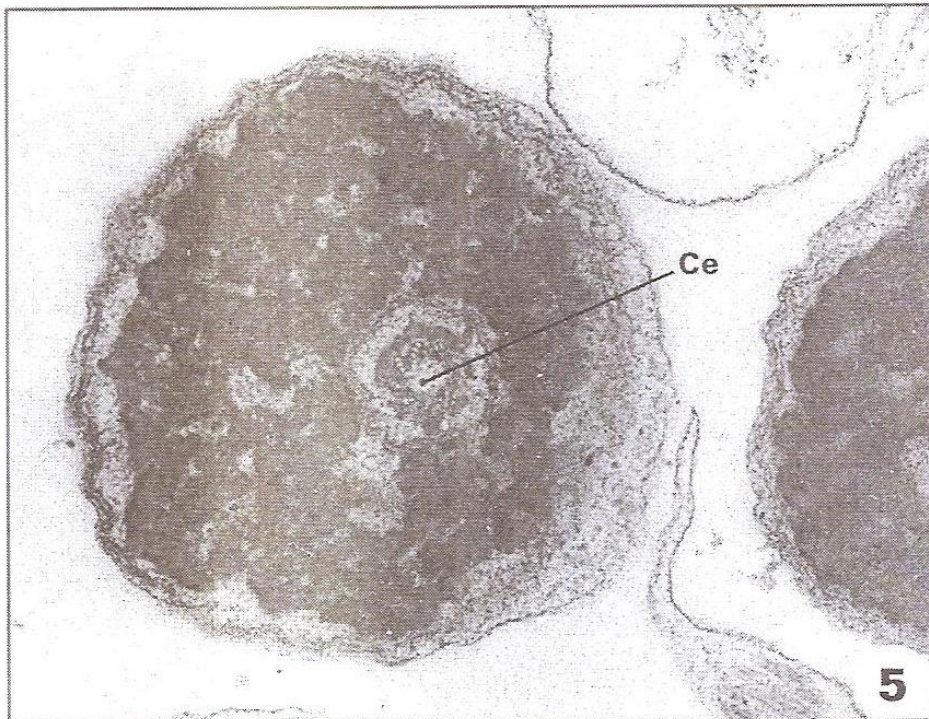


Figura 5 – Corte transversal de espermatíde em fase final de maturação, na qual se observa um centríolo (Ce) em corte transversal. X 40 000.

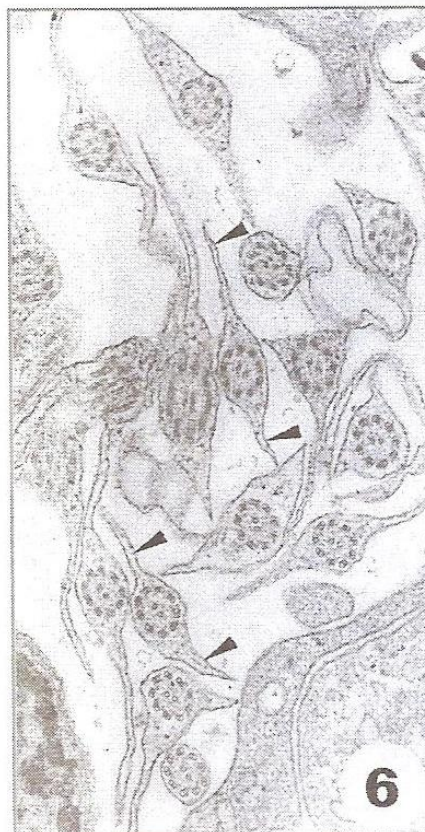


Figura 6 – Corte transversal de alguns flagelos, nos quais se observa uma expansão bilateral do citoplasma da cauda (setas). X 26 000.



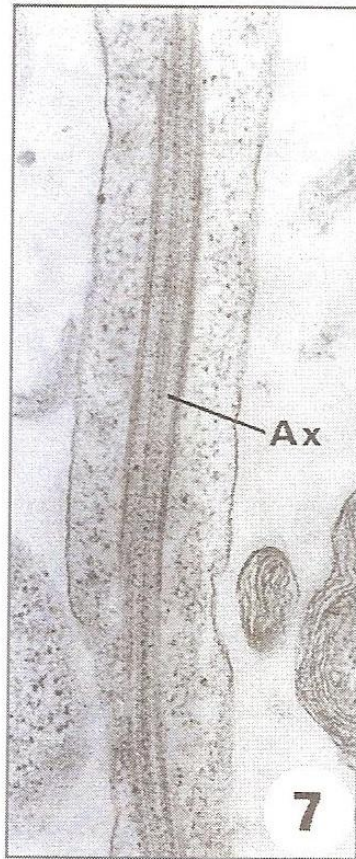


Figura 7 – Flagelo em forma de nadadeira, em corte longitudinal, mostrando o axonema (Ax) na zona central. X 26 000.

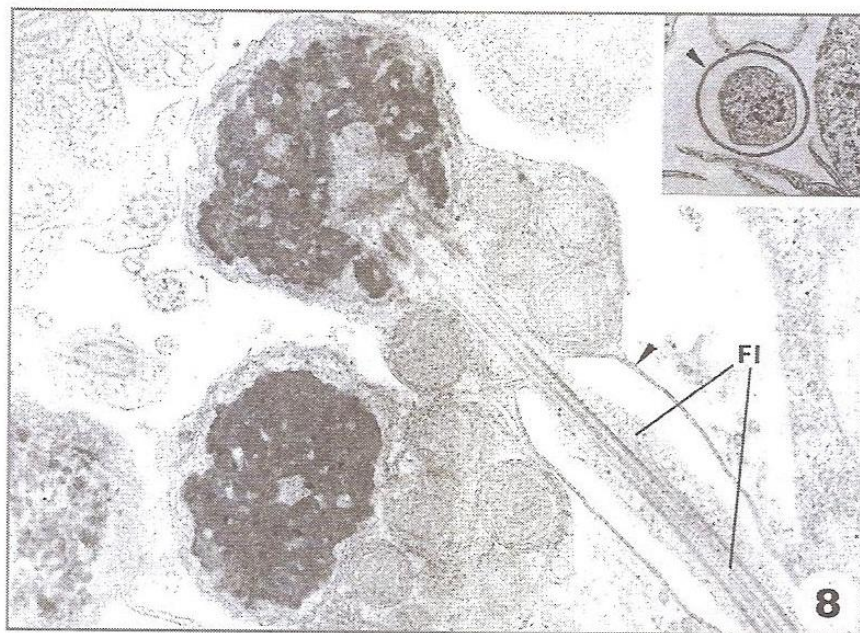


Figura 8 – Espermatozóide maduro, apresentando uma capa muito fina (setas) a rodear a zona proximal do flagelo (FI). X 26.000. Detalhe: Corte transversal da cauda mostrando a constituição axonemal (ao centro) e o plasmalema lateral (seta). X 20 000.