

ULTRAESTRUTURA DO ESPERMATOZÓIDE DE *PROTOTHACA PECTORINA* (LAMARCK) (MOLLUSCA, BIVALVIA) DO LITORAL NORTE DO BRASIL

Edilson Matos<sup>1</sup>  
Patricia Matos<sup>2</sup>  
Graça Casal<sup>3</sup>  
Carlos Azevedo<sup>4</sup>

ABSTRACT. ULTRASTRUCTURE OF THE SPERMATOZOON OF *PROTOTHACA PECTORINA* LAMARCK (MOLLUSCA, BIVALVIA) OF THE NORTH LITTORAL OF THE BRAZIL. The ultrastructure of spermatozoa of the *Protothaca pectorina* (Lamarck, 1818) is described. The most significant differences were found in the structure and arrangement of the acrosomes, with contains two types of material, one fibrillar, the other electron-dense granular. It is concluded that sperm ultrastructure is of the primitive type.

KEY WORDS. Mollusca, Bivalvia, *Protothaca pectorina*, ultrastructure, spermatozoa

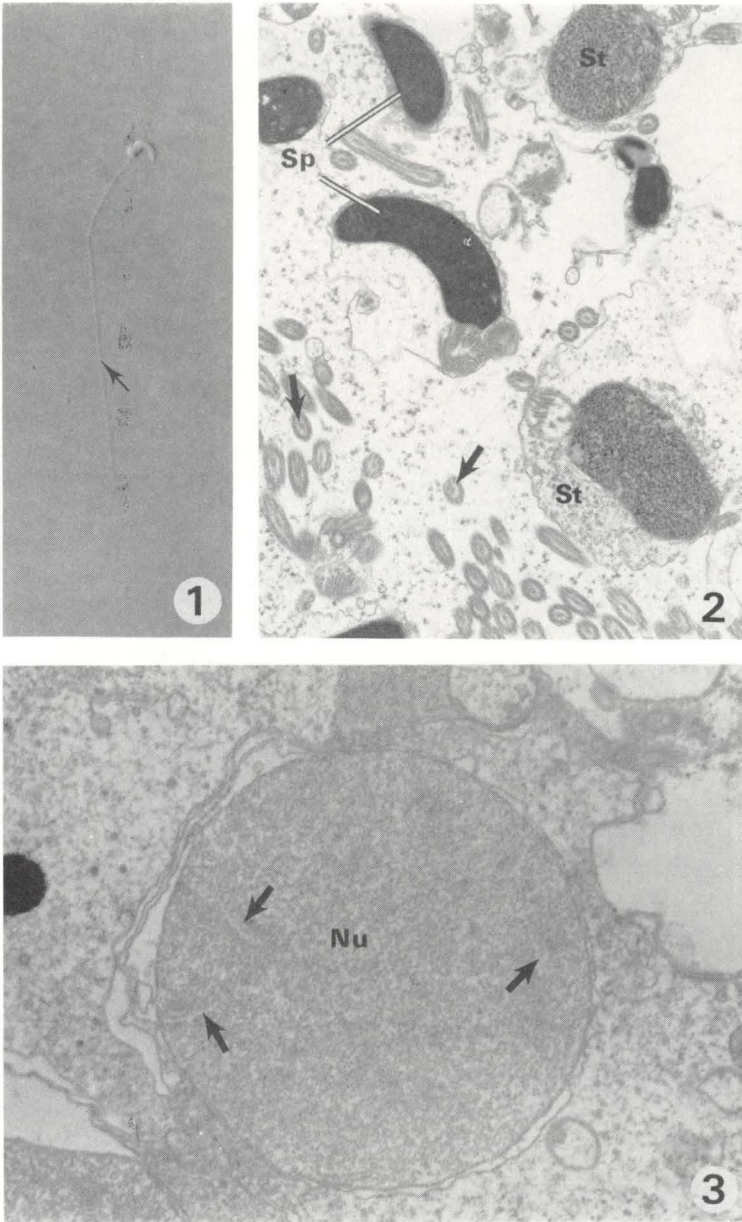
Os espermatozoides dos moluscos bivalves são do tipo primitivo e mostram uma morfologia constante da peça intermediária com a quantidade de mitocôndrias, entretanto apresentam uma grande variação nas dimensões nucleares e acrosomal (FRANZÉN 1983). Já os espermatozoides de moluscos gastrópodos são do tipo modificado (ECKELBARGER & EYSTER 1981; AZEVEDO & CORRAL 1985; BUCKLAND-NICKS & CHIA 1986), assim como algumas espécies tem sido descritas como espermatozoides primitivos (AZEVEDO *et al.* 1985; HODGSON & BERNARD 1988). Muitas descrições de espermatogênese de bivalves mostram que a formação da cauda ocorre somente durante a espermatogênese, quando o acrosoma está sendo formado. Recentemente, alguns autores têm observado espermatogônias e espermátócitos com cauda e/ou vesícula acrosomal (SOUSA *et al.* 1989; ROCHA & AZEVEDO 1990; ECKELBARGER *et al.* 1990), sendo possível em muitos estudos prévios sobre a espermatogênese em que estas estruturas são fato normal no estágio inicial espermatogênico. Neste trabalho apresenta-se a estrutura fina do espermatozóide de um bivalve que ocorre na população marinha do litoral norte do Brasil.

1) Departamento de Biologia Animal, Histologia e Embriologia, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. 66077-530 Belém, Pará, Brasil.

2) Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal do Pará. 66075-900 Belém, Pará, Brasil.

3) Laboratório de Biologia Celular, Instituto Superior de Ciências da Saúde. 4580, Paredes, Portugal.

4) Departamento de Biologia Celular, Universidade do Porto. 4050 Porto, Portugal.



Figs 1-3. (1) Espermatozóide observado em microscopia óptica de contraste de interferência - Nomarski: flagelo (seta), 10 $\mu$ m; (2) diversos estágios de desenvolvimento da espermatogênese: espermátides (St), espermatozóides (Sp) e flagelos (setas), 2,5 $\mu$ m; (3) núcleo (Nu) de um espermátocito I evidenciando-se alguns complexos sinaptonêmicos (setas), 1,5 $\mu$ m.

## MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes de *Protothaca pectorina* Lamarck, 1818 foram coletados nos braços do rio Cuiarana, Salinópolis, Pará (00°36'47"S, 47°21'30"W) durante o período anual, em que se processa o amadurecimento gonadal.

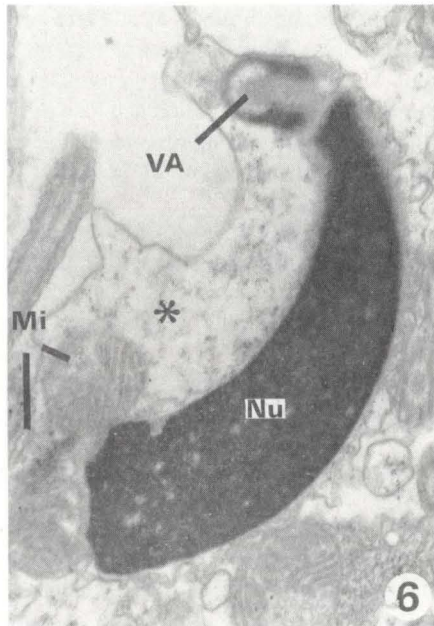
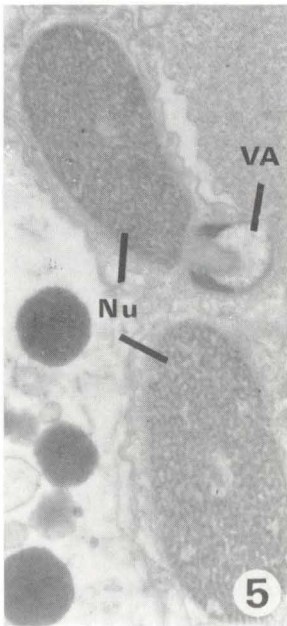
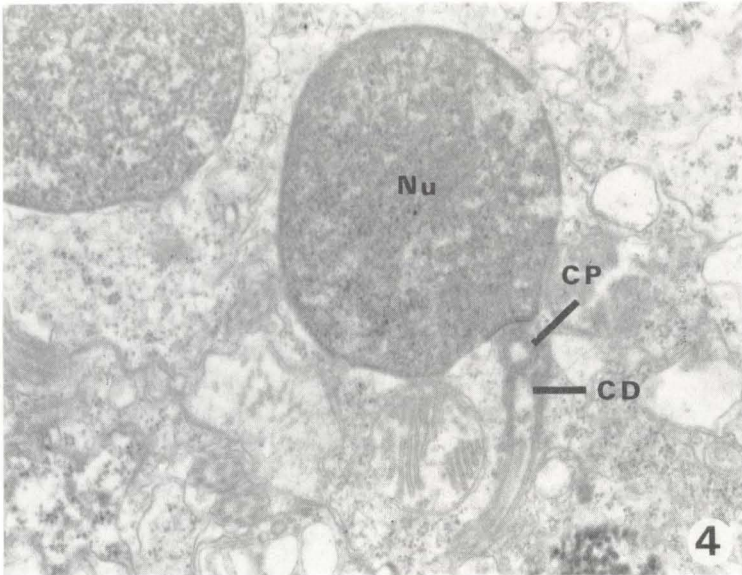
Pequenos fragmentos de testículos foram fixados em glutaraldeído a 2,5% mais uma gota de acetato de uranila a 5% em tampão cacodilato de sódio 0,2M e pH 7,4 a 4°C durante duas horas. Após lavagem no mesmo tampão durante duas horas a 4°C, os fragmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão, a 4°C durante duas horas. O tecido foi então desidratado em série crescente de álcool etílico, seguido de três trocas de óxido de propileno. A inclusão foi feita em Epon, os cortes semifinos e ultrafinos em ultramicrótomo com faca de vidro e diamante, e a dupla contrastação com solução aquosa saturada de acetato de uranila e citrato de chumbo MATOS *et al.* (1995). As grades contendo os cortes foram examinados e fotografados no microscópio eletrônico JEOL 100CXII, operando a 60Kv.

## RESULTADOS

As mudanças ultraestruturais ocorridas durante a espermatogênese de *Protothaca pectorina* são similares às que estão descritas e publicadas sobre espermatozóides de moluscos bivalves, entretanto alguns aspectos específicos serão descritos (Figs 1-2). Os espermatócitos I apresentam os núcleos de forma esférica e podem ser facilmente identificados durante a fase de zigóteno/paquíteno, quando os complexos sinaptonêmicos estão presentes (Fig. 3). Nas espermátides jovens observou-se o início de desenvolvimento do acrosoma, o núcleo com escassa condensação cromatínica e os dois centríolos em posição ortogonal, diferenciando-se o centríolo distal num flagelo (Fig. 4). Durante o desenvolvimento das espermátides a vesícula acrosômica migra para a região anterior e diferenciam-se no seu interior duas regiões distintas, uma fibrilar e outra granular (Fig. 5). O espermatozóide desta espécie é considerado primitivo, com características específicas de animais que utilizam a fertilização externa, e apresenta-se constituído de três partes: a cabeça com o acrosoma e o núcleo, a peça intermediária com o arranjo clássico de quatro mitocôndrias e o flagelo do tipo axonêmico (Fig. 6).

## DISCUSSÃO

Os espermatozóides de moluscos bivalves geralmente são do tipo primitivo, apresentando um acrosoma e núcleo, longos ou curtos, com ou sem perfuratório. Uma constante característica nesta Classe é também a peça intermediária, constituída de poucas mitocôndrias esféricas na base nuclear envolvendo os dois centríolos (DANIELS *et al.* 1971; POPHAM *et al.* 1974; HODGSON & BERNARD 1986). Em relação a outros bivalves, o espermatozóide de *P. pectorina* apresenta um núcleo arqueado com acrosoma bem evidente, peça intermediária com as mitocôndrias envolvendo a região centriolar, e o flagelo do tipo axonêmico, sendo pois classificado como do tipo primitivo conforme FRANZÉN (1983).



Figs 4-6. (4) Espermátide jovem: núcleo (Nu), centríolo proximal (CP) e centríolo distal (CD), 1 $\mu$ m; (5) espermátide evidenciando-se no núcleo a condensação da cromatina (Nu) e a formação da vesícula acrosômica (VA), 1 $\mu$ m; (6) espermatozóide jovem: vesícula acrosômica (VA), mitocôndrias (Mi), núcleo encurvado (Nu) e porções citoplasmáticas (\*), 1 $\mu$ m.

AGRADECIMENTOS. Ao Prof. Dr. Osmar Domaneschi (Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo) pela identificação da espécie. Ao Sr. João Carvalheiro pelo serviço iconográfico. Trabalho parcialmente subsidiado pela Universidade do Porto (Portugal), FCAP, UFPa, CEPNOR/IBAMA e Fundação Engenheiro António de Almeida (Portugal).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, C. & L. CORRAL. 1985. The fine structure of the spermatozoa of *Siphonaria algesirae* (Gastropoda, Pulmonata). **Jour. Morphol.** **186**: 107-117.
- AZEVEDO, C.; A. LOBO-DA-CUNHA & E. OLIVEIRA. 1985. Ultrastructure of spermatozoon in *Gibulla umbilicalis* (Gastropoda, Prosobranchia), with special reference to acrosomal formation. **Jour. Submicrosc. Cytol.** **17**: 609-614.
- BUCKLAND-NICKS, J. & F.S. CHIA. 1986. Formation of the acrosome and basal body during spermiogenesis in a marine snail, *Nerita picea* (Mollusca: Archaeogastropoda). **Gamete Res.** **15**: 13-23.
- DANIELS, E.W.; A.C. LONGWELL; J.M. MCNIFF & R.W. WOLFGANG. 1971. Ultrastructure of spermatozoa from the American oyster *Crassostrea virginica*. **Trans. Amer. Microsc. Soc.** **90**: 275-282.
- ECKELBARGER, K.J. & L.S. EYSTER. 1981. An ultrastructural study of spermatogenesis in the nudibranch mollusc *Spurilla neapolitana*. **Jour. Morphol.** **170**: 283-299.
- ECKELBARGER, K.J.; R. BIELER & P.M. MIKKELSEN. 1990. Ultrastructure of sperm development and mature sperm morphology in three species of commensal bivalves (Mollusca: Galeommatoida). **Jour. Morphol.** **205**: 63-75.
- FRANZÉN, A. 1983. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalves species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. **Gamete Res.** **7**: 199-214.
- HODGSON, A.N. & R.T.F. BERNARD. 1986. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia). **Gamete Res.** **15**: 123-135.
- . 1988. A comparison of the structure of the spermatozoa and spermatogenesis of 16 species of patellid limpet (Mollusca: Gastropoda: Archaeogastropoda). **Jour. Morphol.** **195**: 205-223.
- MATOS, E.; P. MATOS; L. CORRAL & C. AZEVEDO. 1995. Estudo ultraestrutural da espermatogênese de *Donax striatus* Linnaeus (Mollusca, Bivalvia) do litoral norte do Brasil. **Revta bras. Zool.** **12**: 221-227.
- POPHAM, J.D.; M.R. DICKSON & C.K. GODDARD. 1974. Ultrastructural study of the mature gametes of two species of *Bankia* (Mollusca: Teredinidae). **Aust. Jour. Zool.** **22**: 1-12.
- ROCHA, E. & C. AZEVEDO. 1990. Ultrastructural study of the spermatogenesis of *Anodonta cygnea* L. (Bivalvia, Unionidae). **Invert. Reprod. Dev.** **18**: 169-176.
- SOUSA, M.; L. CORRAL & C. AZEVEDO. 1989. Ultrastructural and cytochemical study of spermatogenesis in *Scrobicularia plana* (Mollusca, Bivalvia). **Gamete Res.** **24**: 393-401.