

**Estrutura fina do espermatozóide de
Mellita quinquesperforata Leske (Echinodermata)
do litoral norte do Brasil ¹**

**Edilson Matos ²
Patricia Matos ³
Laura Corral ⁴
Carlos Azevedo ⁴**

ABSTRACT. Fine structure of the spermatozoon of the *Mellita quinquesperforata* (Echinodermata) of the Northern littoral of Brazil. The fine structure of the spermatozoon in the *Mellita quinquesperforata* Leske, 1778 was studied. Collected from the Amazon region, were described by light and transmission electron microscopy. The spermatozoon consisted of a acrosome complex, nucleus, four to six mitochondria, two centrioles and flagellum. The acrosome was composed of a acrosome complex, the acrosomal vesicle and the subacrosomal space. The nucleus are composed by dense material. The middle piece contains 4–6 mitochondria which are arranged around the centrioles, the 9p+0, whose axoneme has the classic 9p+2 microtubular construction.

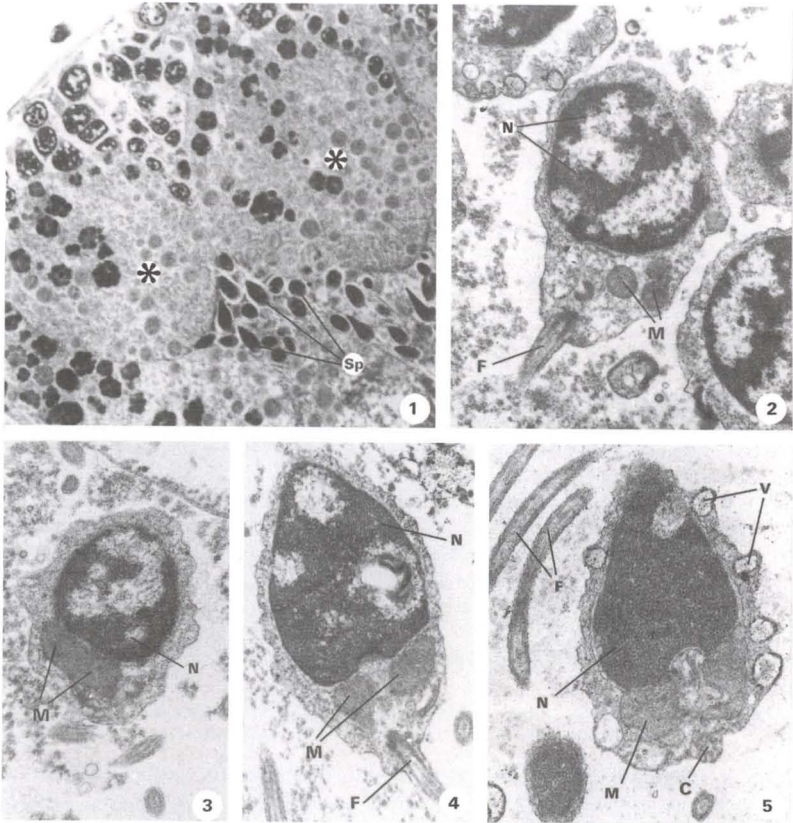
KEY WORDS. Echinodermata, *Mellita quinquesperforata*, ultrastructure, spermatozoon

Os tipos de espermatozóides tem sido recentemente definidos pelo modo de transmissão e fertilização, relacionados a morfologia e filogenia, ocorrendo denominações, como espermatozóide primitivo para FRANZÉN (1983), de “aquatic sperm” para BACCETTI (1979) ou “aquasperm” para JAMIESON (1987). Os espermatozóides de Echinodermata são morfologicamente similares entre si, e referenciados como do tipo “primitivo”, tendo entretanto características distintas. Este trabalho apresenta a descrição da estrutura fina do espermatozóide de *Mellita quinquesperforata* Leske, 1778 do litoral norte do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Vários espécimes de *M. quinquesperforata* foram colhidos nas praias de Ajuruteua (Bragança – Pará) (00°50'55"S, 46°36'30"W), durante todo o ano. Observados macroscopicamente, dissecada a região ventral, foi comprovada em

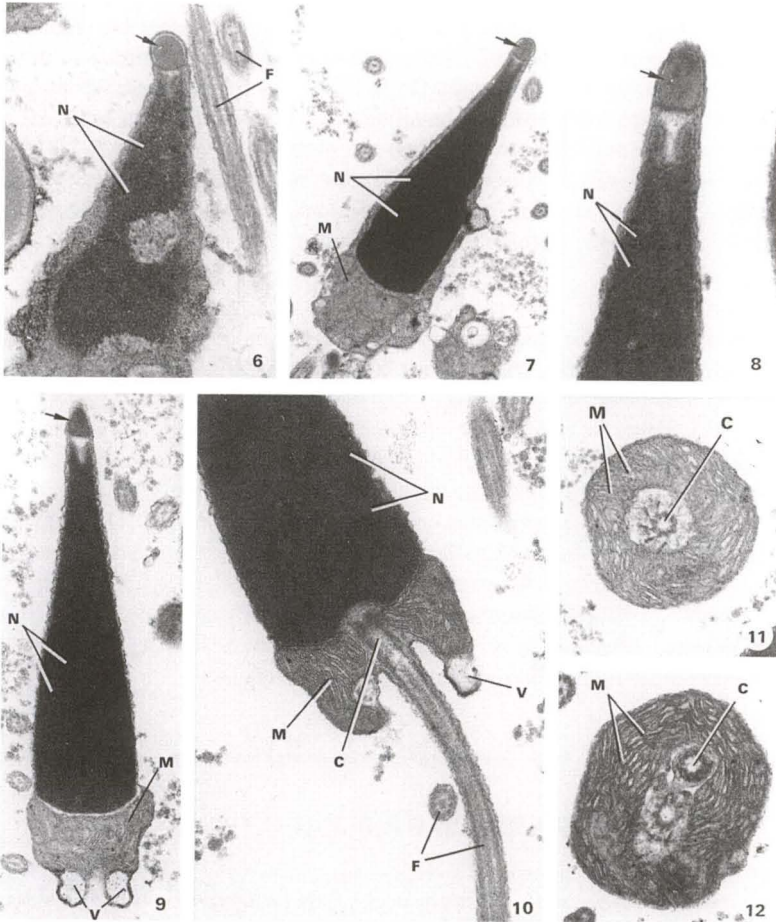
- 1) Trabalho parcialmente subsidiado pela FCAP, UFPA e Fundação Engenheiro António de Almeida (Portugal).
- 2) Correspondências para: Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. Avenida Tancredo Neves, 66077-530 Belém, Pará, Brasil.
- 3) Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal do Pará. 66059-900 Belém, Pará, Brasil.
- 4) Departamento de Biologia Celular, ICBAS, Universidade do Porto. 4050 Porto, Portugal.



Figs 1-5. *Mellita quinquesperforata* (Echinodermata). (1) Corte semifino do testículo, observado em microscópio de contraste de interferência (Nomarski), mostrando cistos espermáticos (*) contendo espermátides. Numa porção mais interna são visíveis espermatozoides maduros – Sp; (2-4) cortes ultrafinos de células em diferentes fases em que ocorrem durante a espermiogênese, caracterizada pela gradual condensação da cromatina do núcleo (N), rearranjo das mitocôndrias (M) e formação do flagelo (F) (flagelogênese); (5) aspecto de uma espermátide tardia mostrando o núcleo denso (N), mitocôndrias (M) na posição basal, algumas vesículas (V) a periferia do citoplasma, corte transversal do centríolo (C). Junto observam-se cortes longitudinais de flagelos (F).

microscopia estereoscópica, diferenças de coloração entre as gônadas, apresentando-se ligeiramente avermelhadas nas fêmeas e amareladas nos machos. Após esta identificação, pequenos fragmentos de gônada foram fixados pela técnica de Gwo *et al.* (1996) modificada, que consiste na fixação em glutaraldeído a 5%, adicionado de sucrose 7%, em tampão cacodilato por 2 h a 4°C. Os fragmentos foram lavados por 45 minutos em tampão cacodilato a temperatura ambiente e pós-fixados em tetróxido de ósmio tamponado por 1 h a 4°C. Em seguida, receberam três banhos em tampão cacodilato, por 15 minutos cada. Os fragmentos foram então desidrata-

dos na série crescente de etanol e óxido de propileno, e embebidos em Epon 812. Cortes semifinos foram corados com azul de toluidina a 5% e observados em microscópio de interferência de fase Nomarski (DIC) e cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e observados em microscópio eletrônico de transmissão JEOL 100CXII a 60 Kv.



Figs 6-12. (6-9) Cortes ultrafinos mostrando a condensação do núcleo (N), a formação do acrosoma (setas) e o arranjo mitocondrial (M) que vai dar origem a peça intermediária do espermatozóide maduro. No final da espermiogênese pode-se observar as vesículas (V) e os centríolos (C) localizados na base da peça intermediária; (10) detalhe ultraestrutural de um espermatozóide na fase final de maturação, mostrando o núcleo (N), a peça intermediária com a mitocôndria (M), o centríolo (C) e as vesículas basais (V). Observam-se também cortes longitudinais e transversais de flagelos (F); (11-12) corte transversal da peça intermediária obtida em dois níveis diferentes, mostrando os centríolos (C) na parte central da mitocôndria (M).

RESULTADOS

Os espermatozóides apresentam-se constituídos de um complexo acrosômico, um núcleo, peça intermediária com 4-6 mitocôndrias, um par de centríolos e um flagelo (Figs 1-12). O complexo acrosômico consiste de duas partes: a vesícula acrosômica com aspecto cônico, e o espaço sub-acrosômico apresentando invaginação e depressão ao ápice nuclear (Figs 6-9). A parte anterior e posterior do núcleo, apresenta invaginações (Figs 6, 8 e 10), e a cromatina apresenta-se ligeiramente condensada na fase inicial (Figs 2-6) tornando-se altamente condensada, homogênea e compacta na fase mais adiantada (Figs 7-10). Na região posterior do núcleo, observamos a peça intermediária, envolvida por 4-6 mitocôndrias esféricas apresentando cristas e matriz, e envolvendo o complexo centriolar (Figs 5, 10-12). Um par de centríolos são envolvidos pelas mitocôndrias, e apresentam orientação perpendicular ao núcleo, com o clássico arranjo de 9+0 microtúbulos triplos (Figs 11-12). O flagelo exibe o típico 9+2 microtúbulos.

DISCUSSÃO

A estrutura e desenvolvimento dos espermatozóide tem sido estudados em várias espécies de equinodermos (LONGO & ANDERSON 1969; DAN & SIRAKAMI 1971; ATWOOD 1974; BICKELL *et al.* 1980; YAMASHITTA 1983; BUCKLAND-NICKS *et al.* 1984). Espermatozóides de estrela do mar, por exemplo, apresentam um acrosoma com componentes estruturais e funcionais bastante diferentes (MABUCHI & MABUCHI 1973; SOUSA & AZEVEDO 1985, 1986, 1988), mantendo a interação entre estes diferentes componentes e o ovócito para fertilização. O detalhamento das células espermáticas não tem sido analisadas ultraestruturalmente, presumindo-se que a formação acrosomal ocorra ainda na fase de espermátide (DAN & SIRAKAMI 1971; JANSSEN 1984) demonstrando ser apropriada na fase final de maturação da espermátide em *Marthasterias glacialis* Linnaeus, por SOUSA & AZEVEDO 1988, na interação espermatozóide/ovócito durante a fertilização.

AGRADECIMENTOS. Ao Sr. João Carvalheiro pelo serviço iconográfico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATWOOD, D.G. 1974. Fine structure of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids of the sea cucumbers *Cucumaria lubrica* and *Leptosynapta clarki* (Echinodermata: Holothuroidea). *Can. Jour. Zool.* **52**: 1389-1396.
- BACCETTI, B. 1979. The evolution of the acrosomal complex, p. 305-329. In: D.W. FAWCETT & J.M. BEDFORD (Eds). *The spermatozoon*. Baltimore, Urban and Schwarzenberg Inc.
- BICKELL, L.R.; F.S. CHIA & B.J. CRAWFORD. 1980. A fine structural study of the testicular wall and spermatogenesis in the crinoid, *Florometra serratissima* (Echinodermata). *Jour. Morphol.* **166**: 109-126.
- BUCKLAND-NICKS, J.; J. WALKER & F.S. CHIA. 1984. Ultrastructure of the male reproductive system and of spermatogenesis in the viviparous brittle-star, *Amphipholis squamata*. *Jour. Morphol.* **179**: 243-262.
- DAN, J. C. & A. SIRAKAMI. 1971. Studies on the acrosome. X. Differentiation of the starfish acrosome. *Dev. Growth differ.* **13**: 37-52.

- FRANZEN, A. 1983. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. **Gamete Res.** 7: 199-214.
- GWO, J.C.; C.H. LIU & C.H. CHIENG. 1996. Ultrastructure of the spermatozoa of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia, Ostreidae). **Jour. Submicrosc. Cytol. Pathol.** 28 (3): 395-400.
- JAMIESON, B.G.M. 1987. A biological classification of sperm types, with special reference to annelids and molluscs, and an example of spermiocladistics, p. 311-332. In: H. MOHRI (Ed.). **New horizon in sperm cell research**. Tokio, Japan Scientific Societies Press.
- JANSSEN, H.H. 1984. Development and ultrastructure of spermatozoa of *Archaster typicus* Mull. And Trosch. (Echinodermata, Asteroidea). **Int. Jour. Invert. Reprod. Devl.** 7: 333-344.
- LONGO, F.J. & E. ANDERSON. 1969. Sperm differentiation in the sea urchins *Arbacia punctulata* and *Strongylocentrotus purpuratus*. **Jour. Ultrastruct. Res.** 27: 486-509.
- MABUCHI, Y. & I. MABUCHI. 1973. Acrosomal ATPase in starfish and bivalve mollusk spermatozoa. **Expl. Cell. Res.** 82: 271-279.
- SOUSA, M. & C. AZEVEDO. 1985. Acrosomal reaction and early events at fertilization in *Marthasterias glacialis* (Echinodermata: Asteroidea). **Gamete Res.** 11: 157-167.
- . 1986. Cytochemical study on the spermatozoon and at early fertilization in *Marthasterias glacialis* (Echinodermata: Asteroidea). **Biol. Cell.** 56: 79-84.
- . 1988. Fine structural study of the acrosome formation in the starfish *Marthasterias glacialis* (Echinodermata: Asteroidea). **Tissue & Cell.** 20 (4): 621-628.
- YAMASHITTA, M. 1983. A fine structural study of spermatogenesis in the brittle-star *Ophiura sarsii* (Echinodermata: Ophiuroidea), with a demonstration of the precocious formation of the acrosome. **Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ.** 23: 254-265.

Recebido em 01.VII.1999; aceito em 25.VIII.2000.