

Estrutura fina do espermatozóide de *Acestrorhynchus falcatus* Bloch (Teleostei, Characidae) da região norte do Brasil¹

Edilson Matos²
Patricia Matos³
Laura Corral⁴
Carlos Azevedo⁴

ABSTRACT. Fine structure of the spermatozoon of the *Acestrorhynchus falcatus* Bloch (Teleostei, Characidae) of the northern region of Brazil. Spermatozoa of amazon fish, *Acestrorhynchus falcatus* Bloch, 1794 were investigated by optical microscopy (DIC) and electron microscopy (TEM). Spermatozoa have no acrosome, the head is ovoid, and the midpiece region cylindrical, contains spherical mitochondria. The centriolar complex is located at the lateral side of the nucleus, formed by nine peripheral pairs of microtubules and arranged in a right angle to each other. The flagellum consists of nine pairs of peripheral and two central microtubules.

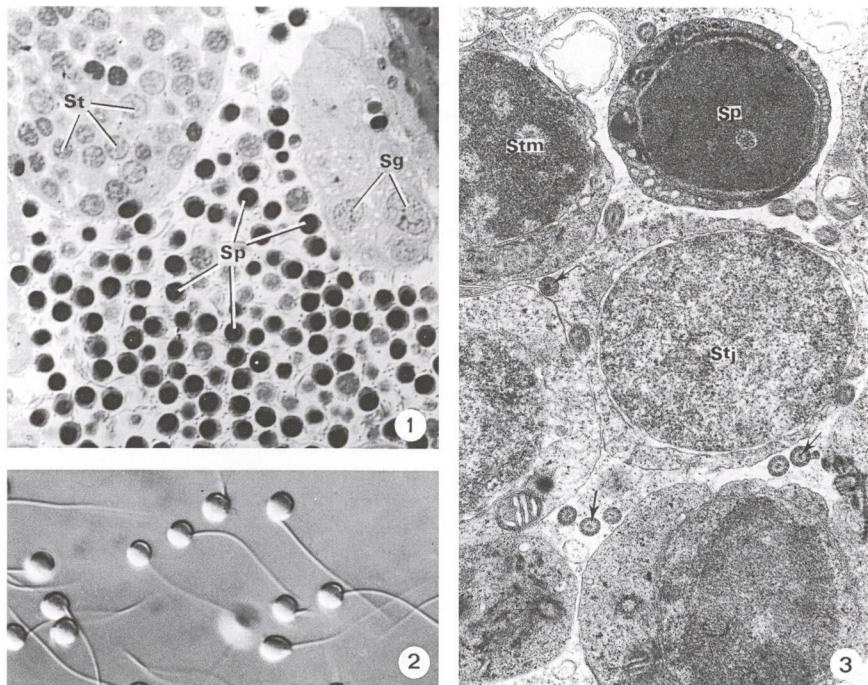
KEY WORDS. Teleostei, Characidae, *Acestrorhynchus falcatus*, ultrastructure, spermatozoon

Em peixes o estudo da estrutura fina dos espermatozoides revela diferenças específicas entre as várias espécies. A organização de espermatozoides de muitos teleósteos, devido ao desconhecimento de muitas características ou então completamente desconhecidas (JAMIESON 1991), sugere que a morfologia do espermatozóide, esteja relacionada ao modo de fertilização e ao desenvolvimento larval, determinando para os animais aquáticos, com fertilização externa tipo de gameta denominado “primitivo”, e naqueles com fertilização interna, o tipo “modificado” ou “aberrante” (FRANZÉN 1983). O presente estudo descreve a estrutura fina do espermatozóide de peixe da região amazônica pertencente à família Characidae.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 exemplares adultos do peixe *Acestrorhynchus falcatus* Bloch, 1794 coletados na região da cidade de Peixe Boi, Pará, (01°11'30"S 47°18'54"W) durante todo o ano. Pequenos fragmentos de gônada masculina foram imediatamente fixados para microscopia eletrônica, em glutaraldeído a 3% tampão-nado com cacodilato de sódio a 0,2M pH 7,2 durante 3 horas a 4°C. Depois de

-
- 1) Trabalho parcialmente subsidiado pela FCAP, UFPA e Fundação Engenheiro Antônio 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.

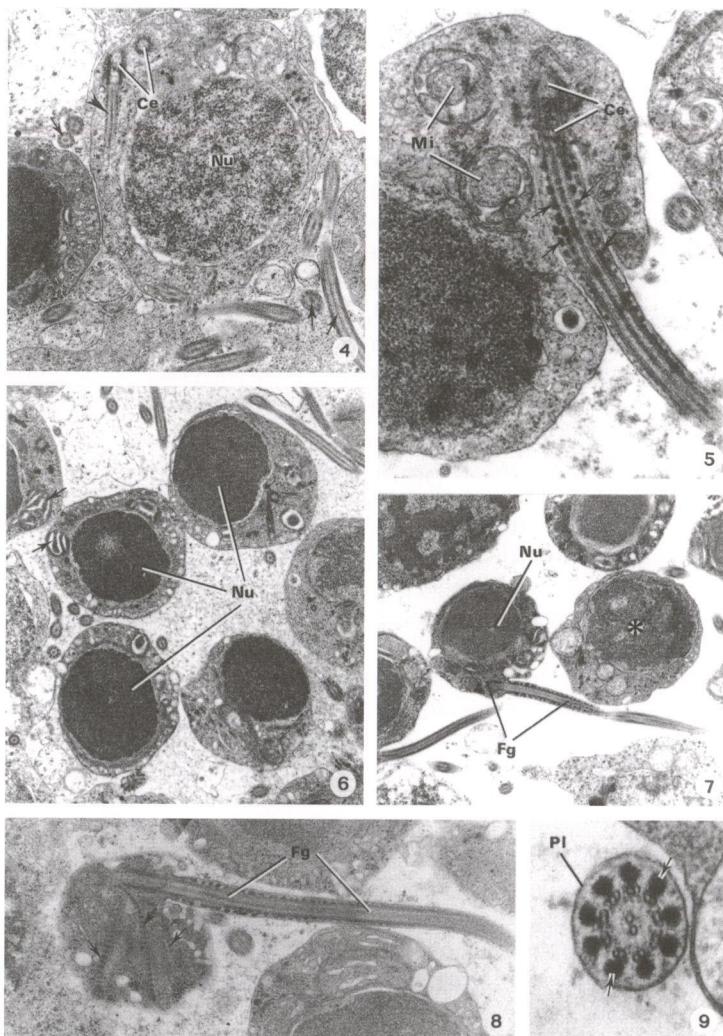


Figs 1-3. *Acestorhynchus falcatus*. (1) Corte semifino de um fragmento testicular, mostrando um cisto com espermatogônias (Sg), espermatócitos (St) e espermatozoides (Sp); (2) espermatozoides maduros observados em DIC; (3) corte ultrafino de células em diferentes fases da espermiogênese. Espermatíde jovem (Stj), espermatíde na fase intermediária (Stm) e espermatozóide (Sp). Entre estas células observam-se vários cortes transversais de flagelos (setas).

lavados no mesmo tampão, durante 2 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 lavagens 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. 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/lâmícola e observados em microscopia óptica equipado com contraste de interferência de fase Nomarski (DIC).

RESULTADOS

Durante a espermiogênese, os espermatócitos (Fig. 1) apresentam o núcleo rodeado por um citoplasma bastante desenvolvido, onde as mitocôndrias (4-6) se encontram dispersas e com uma matriz muito clara (Fig. 5). Após a diferenciação



Figs 4-9. (4) Detalhe ultraestrutural de uma espermátide mostrando o núcleo (Nu) os dois centriolos (Ce) em diferentes planos de cortes e a porção inicial do flagelo envolvida pelo citoplasma (cabeça de seta). Na porção periférica observam-se cortes de flagelos em vários níveis (setas); (5) detalhe ultraestrutural da porção anterior de uma espermátide, mostrando a zona de inserção do flagelo no citoplasma, em posição lateral ao núcleo. Centriolo distal (Ce), massas densas que se projetam ao longo do axonema (setas) e algumas mitocôndrias (Mi); (6) corte transversal das cabeças de espermatozoides maduros, mostrando núcleo eletrodenso (Nu) e a densificação da matriz das mitocôndrias (seta); (7) corte longitudinal do espermatozóide maduro, mostrando o núcleo (Nu) e a zona de inserção do flagelo (Fg). Junto encontra-se um espermatozóide ainda imaturo (*); (8) detalhe ultraestrutural das raízes centriolares (setas) do espermatozóide e respectivo flagelo (Fg); (9) corte transversal da porção inicial do flagelo. Entre os dupletes microtubulares e plasmalema (Pl) observam-se massas granulares densas (setas).

celular, a espermálide apresenta o núcleo mais condensado, o flagelo apresenta-se inserido no citoplasma, formando uma fossa citoplasmática em posição lateral ao núcleo e as mitocôndrias continuam dispersas no citoplasma (Figs 4-5). Na fase final de diferenciação, o espermatozóide apresenta o núcleo bastante eletrodenso (Figs 1-3, 6-7), o citoplasma apresenta-se muito reduzido, formando uma faixa ao redor do núcleo, onde se encontram as mitocôndrias com a matriz mais densa (Fig. 6). Não é muito habitual observar no espermatozóide, as mitocôndrias ao redor do núcleo (Figs 5-7), caracterizando que este espermatozóide não possua peça intermediária, característica da maioria destas células. O flagelo mantém a sua posição inicial em relação ao núcleo (Figs 2, 4, 5, 7, 8). Na porção inicial apresenta massas densas (Figs 5-6, 8-9) que se projetam ao longo dos microtúbulos, porém na porção final, estas estruturas não são mais observadas. Ainda em relação ao flagelo também não é muito frequente encontrar raízes centriolares como se pode observar no presente estudo (Fig. 8).

DISCUSSÃO

Na organização estrutural dos espermatozoides dos teleósteos, existem grandes divergências. Geralmente, os espermatozoides de animais que apresentem fertilização interna caracterizam-se por apresentarem núcleo bem desenvolvido, alongado, e peça intermediária cilíndrica (BILLARD 1970; GRIER 1973); os espermatozoides de indivíduos com fertilização externa apresentam a cabeça com variações de forma, desde esféricas a arredondadas, e a peça intermediária relativamente pequena (KOCH & LAMBERT 1990; JAMIESON 1991; GWO *et al.* 1995). Por outro lado, alguns autores consideram as divergências na estrutura espermática mais relacionadas a aspectos filogenéticos do que a dependência do modo de reprodução (MATTEI & MATTEI 1974; JAMIESON 1991). A organização do espermatozóide de *Acestrorhynchus falcatus* é típica de teleósteos de fertilização externa, pois não apresenta acrosoma. A peça intermediária é pequena, podendo estar integrada, na região da cabeça com um citoplasma separando as mitocôndrias do flagelo. Além destas diferenças constata-se na organização mitocondrial e do flagelo, pela presença de massas densas. Entretanto, existem tendências da redução da peça intermediária, e a sua integração na região da cabeça, pois também esta condição é encontrada em espermatozoides de peixes da família Blenniidae (LAHNSTEINER & PATZNER 1990) e Mullidae (LAHNSTEINER & PATZNER 1995), podendo verificar remanescentes de citoplasma (LAHNSTEINER & PATZNER 1990; MATOS *et al.* 1993, 1995).

AGRADECIMENTOS. Ao Sr. João Carvalheiro pelo serviço iconográfico. Ao Prof. Dr. Heraldo Britiski do Museu de Zoologia, USP, pela identificação da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BILLARD, R. 1970. La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. IV. La spermogenèse. Étude ultrastructurale. *Anal. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 10: 493-510.
- FRANZÉN, 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.
- GRIER, H.J. 1973. Aspects of germinal cyst and sperm development in *Poecilia latipinna* (Teleostei: Poeciliidae). *Jour. Morphol.* 146: 229-250.

- Gwo, J.C.; Y.S. KAO; X.W. LIN; S.L. CHANG & M.S. SU. 1995. The ultrastructure of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) spermatozoon (Teleostei, Gonorynchiformes, Chanidae). *Jour. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 27: 99-104.
- JAMIESON, B.G.M. 1991. "Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa". Cambridge, Univ. Press, 319p.
- KOCH, R.A. & C.C. LAMBERT. 1990. Ultrastructure of sperm, spermiogenesis, and sperm-egg interations in selected invertebrates and lower vertebrates which use external fertilization. *Jour. Electron Microsc. Tech.* 16: 115-154.
- LAHNSTEINER, F. & R.A. PATZNER. 1990. Spermiogenesis and structure of mature spermatozoa in blenniid fishes (Pisces, Blenniidae). *Jour. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 22: 565-576.
- . 1995. Fine structure of spermatozoa of two marine teleost fishes, the red mullet, *Mullus barbatus* (Mullidae) and the white sea bream, *Diplodus sargus* (Sparidae). *Jour. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 27: 259-266.
- MATOS, E.; P. MATOS; E. OLIVEIRA & C. AZEVEDO. 1993. Ultraestrutura do espermatózide do pacu *Metynnis maculatus* Kner, 1960 (Pisces, Teleostei) do rio Amazonas. *Revta Bras. Ciênc. Morfol.*, 10: 7-10.
- MATOS, E.; P. MATOS; L. CORRAL & C. AZEVEDO. 1995. Ultrastructural study of the spermatozoon of *Crenicichla saxatilis* Linnaeus, 1758 (Pisces, Teleostei) from the Amazon River. *Braz. Jour. Morphol. Sci.*, 12: 109-114.
- MATTEI, C. & X. MATTEI. 1974. Spermiogenesis and spermatozoa of the Elopomorpha (Teleostei fish), p. 211-221. In: B.A. AFZELIUS (Ed.). *The functional anatomy of the spermatozoa*. Oxford, Pergamon Press, 342p.

Received on 01.VII.1999; accepted on 25.VIII.2000.