

**ULTRA-ESTRUTURA DO ESPERMATOZÓIDE
DE *Leporinus friderici* BLOCH, 1794
(PISCES, TELEOSTEI) DO RIO AMAZONAS ¹**

**Edilson MATOS ²
Patricia MATOS ³
Laura CORRAL ⁴
Carlos AZEVEDO ⁵**

RESUMO: A ultra-estrutura do espermatozóide de *Leporinus friderici* Bloch, 1794 (Pisces, Teleostei) está descrita. O espermatozóide apresenta-se constituído de três regiões morfológicamente distintas : a cabeça com aspecto esferoidal e o núcleo de aspecto reniforme; a peça intermediária contendo mitocôndrias e expansão lateral, e a cauda com formação axonêmica clássica de 9 + 2p de microtúbulos. Não se observou acrossomo durante a espermiogênese.

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

**ULTRASTRUCTURE OF THE SPERMATOZOON
OF *Leporinus friderici* BLOCH, 1794
(PISCES, TELEOSTEI) FROM THE AMAZON RIVER.**

ABSTRACT: Ultrastructural examination of the spermatozoon of *Leporinus friderici* (Pisces, Teleostei) from Amazon river showed three morphological parts : a spheroidal head with reniform nucleus ; the middle piece with mitochondria and a lateral expansion and the tail with axonemal organization. No acrosomal structure is observed during spermiogenesis.

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

¹ Aprovado para publicação em 22.06.99

² Professor Titular de Histologia e Embriologia da FCAP

³ Bióloga, Professora Auxiliar da UFPa.

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

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

1 - INTRODUÇÃO

Os Anostomídeos, denominados popularmente de aracu na região norte e de piaus nas demais regiões do Brasil, pertencem à família Anostomidae, e são restritos à América do Sul, com representantes em todas as bacias hidrográficas do Brasil (Géry, 1977). As comparações ultra-estruturais entre os diferentes tipos de espermatozóides foram estudadas em muitas espécies de Teleósteos (Billard, 1970) encontrando-se uma diversidade morfológica e estrutural muito grande (Mattei, 1970; Jamieson, 1991), como ocorre em outros animais (Chevalier, 1970; Nicander, 1970; Jamieson, 1991). A atividade cíclica observada nos testículos de teleósteos tem sido classificada em vários estágios de desenvolvimento durante determinado período do ano, sendo para isto utilizado critérios morfológicos diversos. Algumas contribuições importantes sobre o ciclo testicular destes animais têm sido feitas (Grier, 1981; Billard et al, 1982), mas poucos trabalhos foram realizados com espécies de peixes tropicais (Matos et al, 1993). O presente estudo tem por objetivo descrever o desenvolvimento ultra-estrutural do espermatozóide de *Leporinus friderici*, especialmente relativo à morfologia e condensação nuclear durante a espermatogênese. Esta espécie é comumente encontrada nos braços de rios da Região Amazônica, convivendo em condições

simpátricas com outras espécies, e são muito bem conhecidas sob o ponto de vista taxonômico e ecológico (Santos, 1982; Santos & Jégu, 1989, 1996; Santos et al., 1996), no entanto, ainda existem grandes lacunas de conhecimento básico.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 exemplares adultos de aracu *Leporinus friderici* Bloch, 1794 peixe teleósteo da família Anostomidae, coletados nos braços do rio Peixe Boi (1° 11' 30" S 47° 18' 54" W), no decorrer do ano, em que se processa o amadurecimento gonadal. Pequenos fragmentos de testículo foram fixados em glutaraldeído a 3%, em tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,2 a 4°C, durante duas horas. Após lavagem no mesmo tampão durante duas a três 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 ultramicrotomo com faca de diamante, e a dupla contrastação com solução aquosa saturada de acetato de uranila e citrato de chumbo (Azevedo et al, 1985). Os cortes contidos em grelhas foram examinados e fotografados no microscópio eletrônico de transmissão JEOL 100 CXII, operando a 60 Kv.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testículos de *Leporinus friderici* são órgãos pares, alongados e filiformes que acompanham o eixo longitudinal da cavidade abdominal do peixe. A superfície do testículo é lisa e sem pigmentação. A coloração e volume variam de acordo com o grau de maturação. Durante o processo de maturação sexual, observa-se que o testículo do aracu apresenta a organização típica de teleósteos. Os túbulos seminíferos são constituídos por cistos espermáticos delimitados por uma camada única de células, correspondentes às células de Sertoli. As células germinativas dentro de cada cisto desenvolvem sincronicamente todos os estágios da espermatogênese, sendo facilmente identificados (Figuras 1 e 2). Nos cistos em que a espermatogênese está presente encontram-se numerosas células unidas por pontes citoplasmáticas, inclusive entre as espermátides em diferenciação (Figura 3). Durante a fase de amadurecimento das células germinais, pode-se observar mudanças nucleares e citoplasmáticas que são consideradas como estágios de maturação; a cromatina apresenta-se irregularmente condensada e o citoplasma relativamente abundante. As espermátides apresentam cromatina mais condensada uniformemente sob a forma de grânulos homogêneos, com pequenos e esparsos agrupamentos de grânulos ocasionais (Fig. 4). As espermátides deixam de apresentar núcleo esférico, sofrendo uma endentação no pólo em que se encontra em contacto com o centríolo, caracterizando completa condensação da cromatina nuclear. O núcleo apresenta-se ligeiramente reniforme, contornos levemente irregulares, poucas

mitocôndrias e bainha citoplasmática se afinando em direção à cauda (Figura 4). Os espermatozóides formados por esse processo de amadurecimento das espermátides podem ser basicamente divididos em cabeça e cauda, sendo considerado do tipo primitivo, sem acrossomo e peça intermediária mal definida (Figura 5). A cabeça é formada pelo núcleo com aspecto ligeiramente reniforme de alta densidade eletrônica, observando-se na reentrância basal do núcleo dois centríolos: o proximal dentro da depressão, e o distal que dá origem ao flagelo. A cauda é constituída essencialmente pelo flagelo do tipo axonêmico $9p + 2$.

A ultra-estrutura dos testículos de *Leporinus friderici* é semelhante à descrita para a maioria dos teleósteos, inclusive sem órgãos acessórios. Quanto à organização estrutural dos testículos, encontra-se na literatura uma terminologia variada, sendo usadas, indistintamente as denominações lóbulo e túbulo, e que Grier et al, 1980, tentaram ordenar a referida estrutura testicular dos teleósteos, em dois padrões testiculares com base na distribuição das espermatogônias. Descreveu um tipo com as espermatogônias restritas à porção distal dos túbulos e outro com as espermatogônias distribuídas ao longo da estrutura tubular. Neste último tipo é onde se encaixa o testículo de *Leporinus friderici*. Entre os túbulos seminíferos de *Leporinus friderici* foram observadas, mergulhadas no tecido intertubular, células intersticiais, como tem sido relatado para outros teleósteos. Em *Leporinus friderici* observou-se a presença de um duto espermático intratesticular, como também foi descrito para *Leporinus silvestrii* (Andrade & Godinho, 1983). As células somáticas que revestem o duto, denominadas de císticas, são

também identificadas como células de Sertoli, apesar de que não pode haver referida homologia entre as células de Sertoli dos vertebrados superiores e a dos peixes. O processo espermatogênico no aracu ocorre dentro de cistos. Com o desenvolvimento sincrônico das células germinativas, até a formação dos espermatozóides, verifica-se o rompimento dos cistos espermáticos e os espermatozóides recém-formados são lançados no lúmen dos túbulos seminíferos. Por apresentar cabeça ligeiramente reniforme a esferoidal e peça intermediária curta, os espermatozóides do aracu são classificados como do tipo primitivo (Billard, 1983; Afzelius, 1978; Lou & Takahashi, 1989; Silva & Godinho, 1991; Matos et al, 1993).

4 - CONCLUSÃO

a) As células germinativas do testículo de *Leporinus friderici* aparecem em diferentes estágios de diferenciação;

b) o espermatozóide de *Leporinus friderici* é do tipo primitivo semelhante à descrita para a maioria do teleósteos;

c) as células germinativas em diferenciação apresentam pontes citoplasmáticas intercelulares;

d) a morfologia espermática pode ser usada como características filogenéticas e taxonômicas.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr Heraldo Britski do Museu de Zoologia da USP pela identificação da espécie. Ao Sr João Carneiro pelo trabalho iconográfico. Trabalho parcialmente subsidiado pela fundação Eng^o António de Almeida (Portugal), FCAP e UFPa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- AFZELIUS, B. A. Fine structure of the gerfish spermatozoon. *J. Ultrastruct. Res.*, v.64, p.309-314, 1978.
- ANDRADE, D. R., GODINHO, H. P. Annual male reproductive cycle of the brazilian teleost fish *Leporinus silvestrii* (Boulenger, 1902). *Arch. Biol., Bruxelles*, v.94, p1-14, 1983.
- AZEVEDO, C., LOBO-DA-CUNHA, A., OLIVEIRA, E. Ultrastructure of the spermatozoon in *Gibulla umbilicalis* (Gastropoda, Prosobranchia), with special reference to acrosomal formation. *J. Submicrosc. Cytol.*, v.17, p. 609-614, 1985.
- BILLARD, R. Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Na structural study. *Cell.Tissue Res.*, v. 233, p. 265-284, 1983.
- _____. Ultrastructure comparée despermatozóides de quelques poissons téléostéens. In: BACCETTI, B. (Ed). *Comparative spermatology*. New York: Academic Press, 1970. p. 73-74
- _____, FOSTIER, A., WEIL, C., BRETON, B. Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Can.J.Fish.Aquatic.Sci.*, v.39, p. 65-79, 1982.
- CHEVALLIER, P. Le noyau da spermiogenesis in *Liza aurata* Risso, 1810 (Teleostei, Mugilidae). *Cell.Tissue Res.*, v.217, p. 415-424, 1970.

- GÉRY, J. **Characoids of the world**. Neptune City: T.F.H. Publ., 1977. 672 p.
- GRIER, H. J. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **Amer.Zool.**, v.21, p.345-357, 1981.
- _____, LINTON, J. R. LEATHERLAND, J. F. De VLAMING, V. L. Structural evidence for two different testicular types in teleost fish. **Am.J.Anat.**, v.159, p. 331-345, 1980.
- JAMIESON, B. G. M. **Fish evolution and systematic: evidence from spermatozoa**. Cambridge: University Press, 1991. 319p.
- 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 da espermatogênese do tamoatá *Hoplosternum littorale* (Hancock) (Teleostei, Callichthyidae) do rio Amazonas. **R.Bras.Zool.**, v.10, p. 215-218, 1993.
- MATTEI, X. Spermiogênese comparée des poissons. In: BACCETTI, B. (Ed.). **Comparative spermatology**. New York: Academic Press, 1970. p. 57-84.
- NICANDER, L. Comparative studies on the fine structure of vertebrate spermatozoon. In: BACCETTI, B. (Ed). **Comparative spermatology**. New York: Academic Press, 1970. p. 47-55,
- SANTOS, G.M. Caracterização, hábitos alimentares e reprodutivos de quatro espécies de "aracus" e considerações sobre o grupo no lago Janauacá. AM. (Characoide). **Acta Amazonica**, v.12, n.4, p. 713-739, 1982.
- _____, JÉGU, M. Inventário taxonômico e redescritção das espécies de anostomídeos (Characiformes, Anostomidae) do baixo rio Tocantins, PA. Brasil. **Acta Amazonica**, v. 19, p. 159-213, 1989.
- _____, _____. Inventário taxonômico dos Anostomídeos (Pisces, Anostomidae) da bacia do rio Uatumã-AM, Brasil, com descrição de duas espécies novas. **Acta Amazonica** v. 26, n.3, p. 151-184, 1996.
- _____, _____, LIMA, A. C. Novas ocorrências *Leporinus pachycheilus* Britsky, 1976 e descrição de uma espécie nova do mesmo grupo na Amazônia Brasileira (Osteichthyies).

ANEXOS

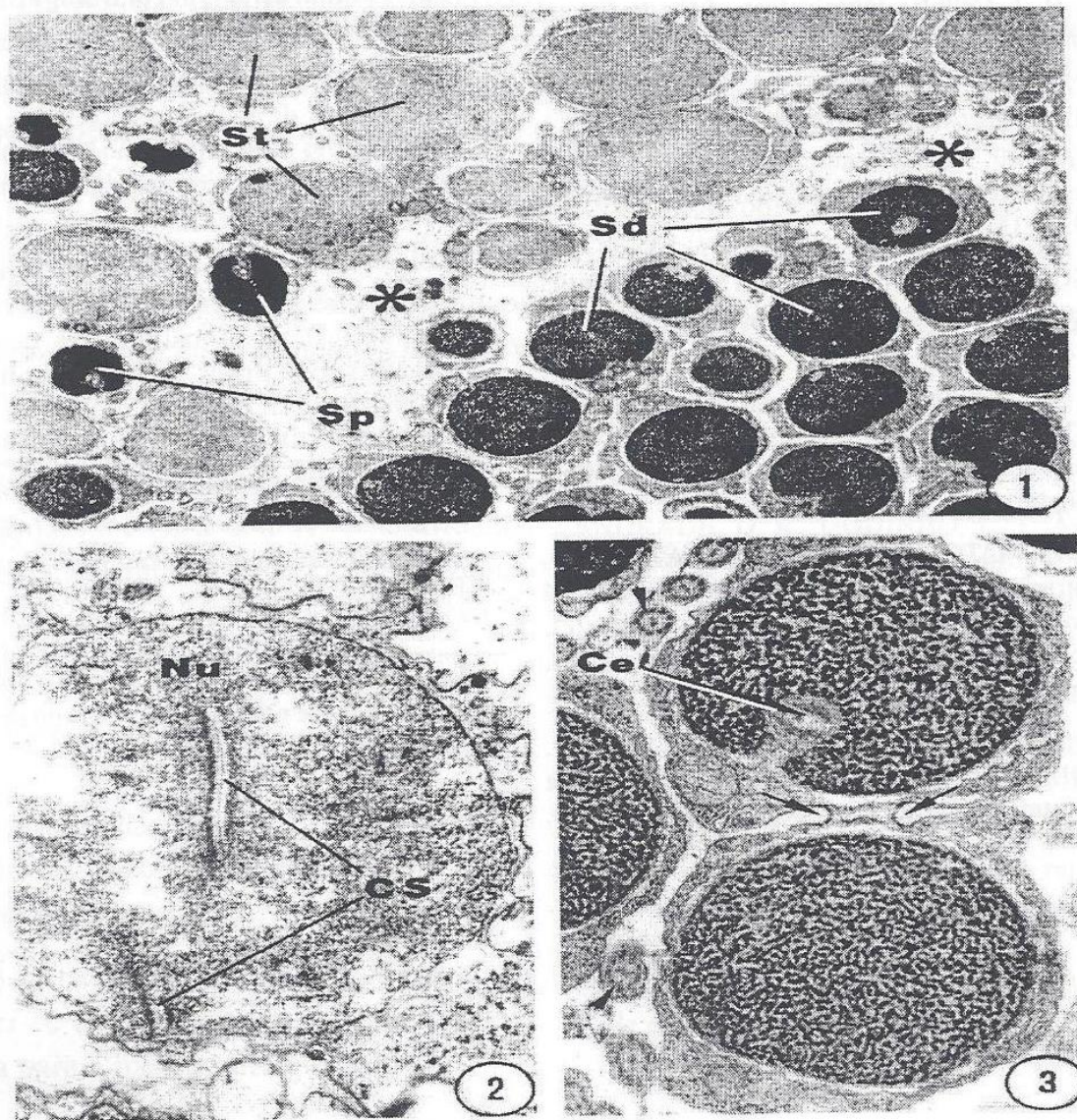


Fig. 1 - Corte transversal ultrafino do testículo de aracu mostrando alguns espermatozoides dispersos no estroma testicular (*), espermatócitos (St), espermátides (Sd) e espermatozoides (Sp) (aumento de 16.000).

Fig. 2 - Espermatócito I mostrando o núcleo (Nu) com alguns complexos sinaptonêmicos (CS) (aumento de 14.200).

Fig. 3 - Duas espermátides interligadas por pontes citoplasmáticas (setas). Na base do núcleo observa-se o centríolo proximal (Ce). Observam-se também cortes transversais de flagelos, mostrando o axonema (cabeças de setas) (aumento de 16.000)

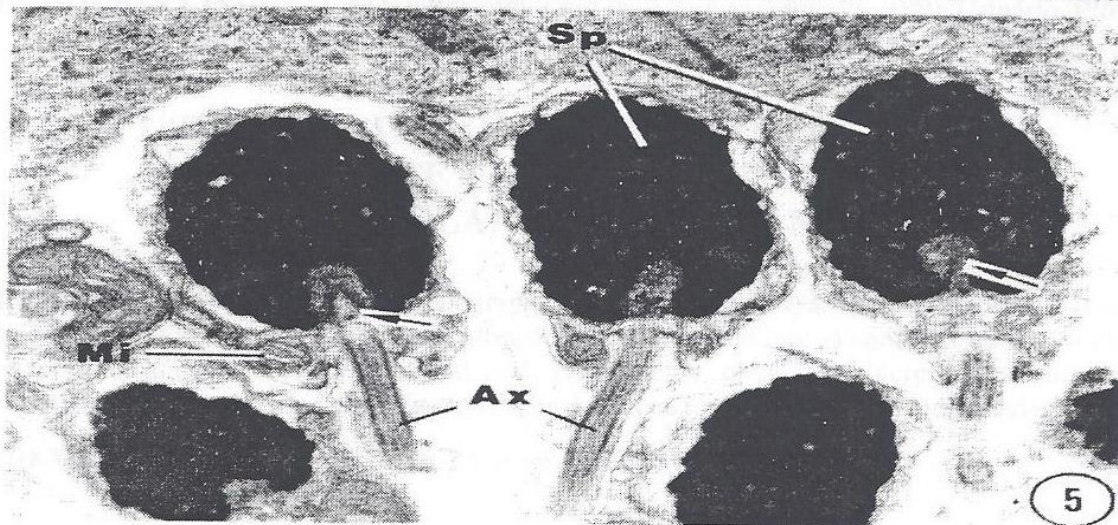
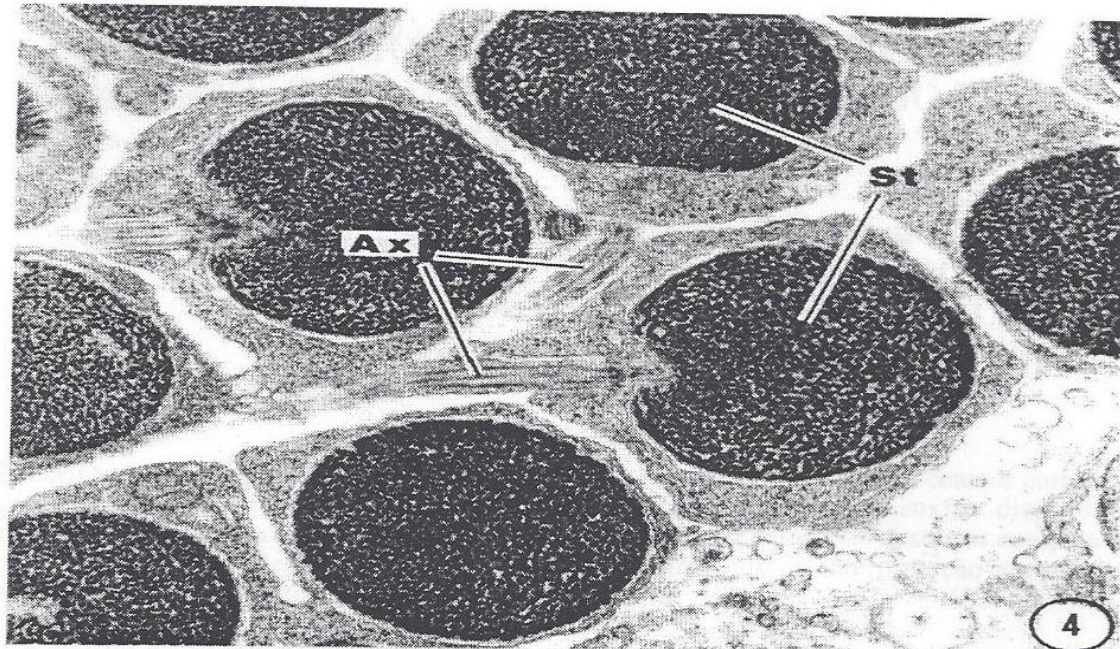


Fig. 4 - Grupo de espermatídes (St) mostrando os centríolos (setas), um dos quais em continuidade com o axonema (Ax) (aumento de 16.000).

Fig. 5 - Grupo de espermatozóides (Sp) mostrando os núcleos densos, os centríolos (setas), algumas mitocôndrias (Mi), e os respectivos axonemas (Ax) (aumento de 16.000).