

ASPECTOS ULTRAESTRUTURAIS DO ESPERMATOZÓIDE DE *NATICA MAROCHIENSISH* (GMELIN) (MOLLUSCA, GASTROPODA) DO LITORAL NORTE DO BRASIL

Edilson Matos¹

Patricia Matos²

Graça Casal³

Carlos Azevedo⁴

ABSTRACT. ULTRASTRUCTURAL ASPECTS OF THE SPERMATOZOON OF *NATICA MAROCHIENSISH* (GMELIN) (MOLLUSCA, GASTROPODA) OF THE NORTH LITTORAL OF BRAZIL. Spermatozoa of *Natica marochiensish* (Gmelin, 1791) is described by light and electron microscopy. The spermatozoon is of the primitive type with head contains a conical acrosomal complex with an acrosomal vesicle of dense matrix having a basis occupied by the subacrosomal space. The middle piece shows the centriolar complex surrounded by mitochondria and the tail contains the axoneme with a 9+2.

KEY WORDS. Mollusca, Gastropoda, *Natica marochiensish*, ultrastructure, spermatozoa

Numerosas investigações sobre a estrutura de espermatozóides (BACCETTI & AFZELIUS 1976; MAXWELL 1983) sugerem que o espermatozóide apresenta grande significado para a classificação taxonômica (HINSCH 1974). Baseado no fato de que o filo Mollusca é provavelmente o segundo maior filo animal (MAXWELL 1983), observa-se que existem poucos estudos morfológicos deste grupo, especialmente sobre a morfologia espermática e a fertilização (TOMPA 1984).

O presente trabalho apresenta aspectos morfológicos do espermatozóide, com especial referência aos componentes da cabeça, peça intermediária e cauda.

MATERIAL E MÉTODOS

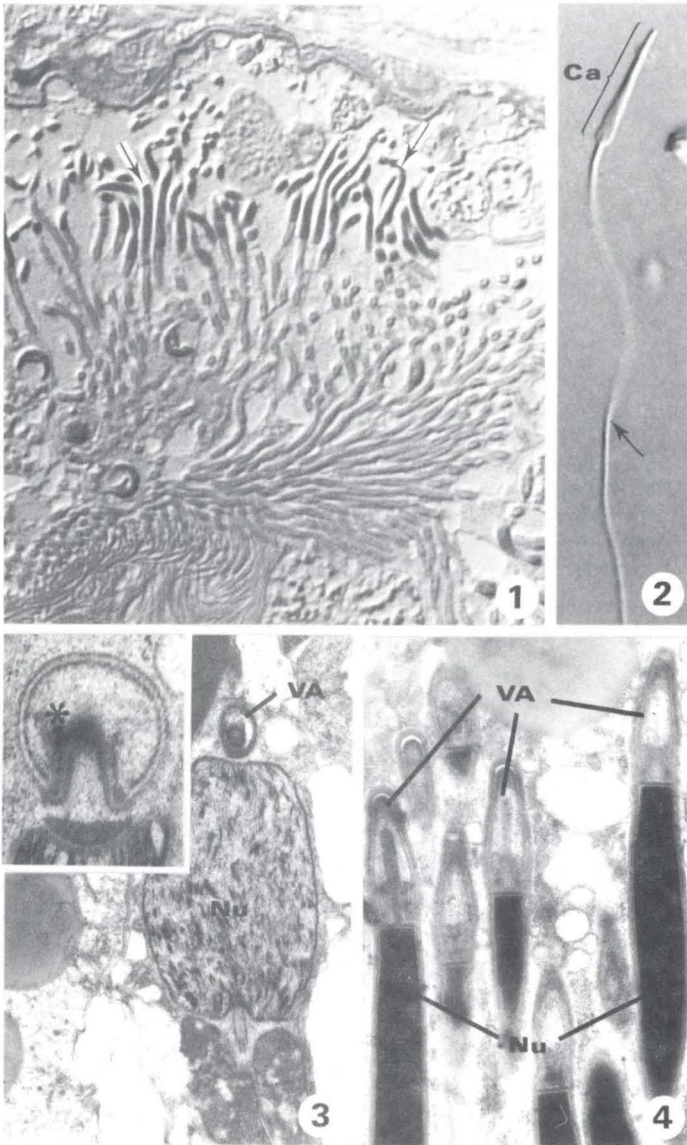
Animais foram coletados nas praias de Ajuruteua (00°50'55"S, 46°36'30"W) e transportados para Belém, Pará, onde em laboratório foram retiradas as gônadas e preparadas para microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica (ME). Os fragmentos de testículo foram retirados imediatamente, confirmados em microscopia

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, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. 66059-900 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 1-4. (1) Corte semifino da gônada (MO) com inúmeros espermatozoides (setas), 10 μ m; (2) espermatozoides maduro observado em microscopia óptica de contraste de interferência – Nomarski – (Ca) cabeça e (seta) cauda, 10 μ m; (3) espermátide ao ME evidenciando o núcleo (Nu) e vesícula acrosômica (VA) – inset: pormenor da vesícula acrosômica onde observa-se, em seu interior, deposição de material eletrodense (*), 2,5 μ m, inset=0,5 μ m; (4) espermatozoides maduros (ME) podendo-se observar a cabeça constituída pelo núcleo e vesícula acrosômica, 1,5 μ m.

pia óptica, e fixados para microscopia eletrônica, em glutaraldeído a 3% tamponado com cacodilato de sódio a 0,2M e pH 7,4 durante três 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. Sequencialmente os fragmentos foram desidratados em série crescente de álcool, seguida de três passagens em óxido de propileno. Depois de desidratado, 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, em microscópio eletrônico JEOL 100 CX II operando a 60Kv.

RESULTADOS

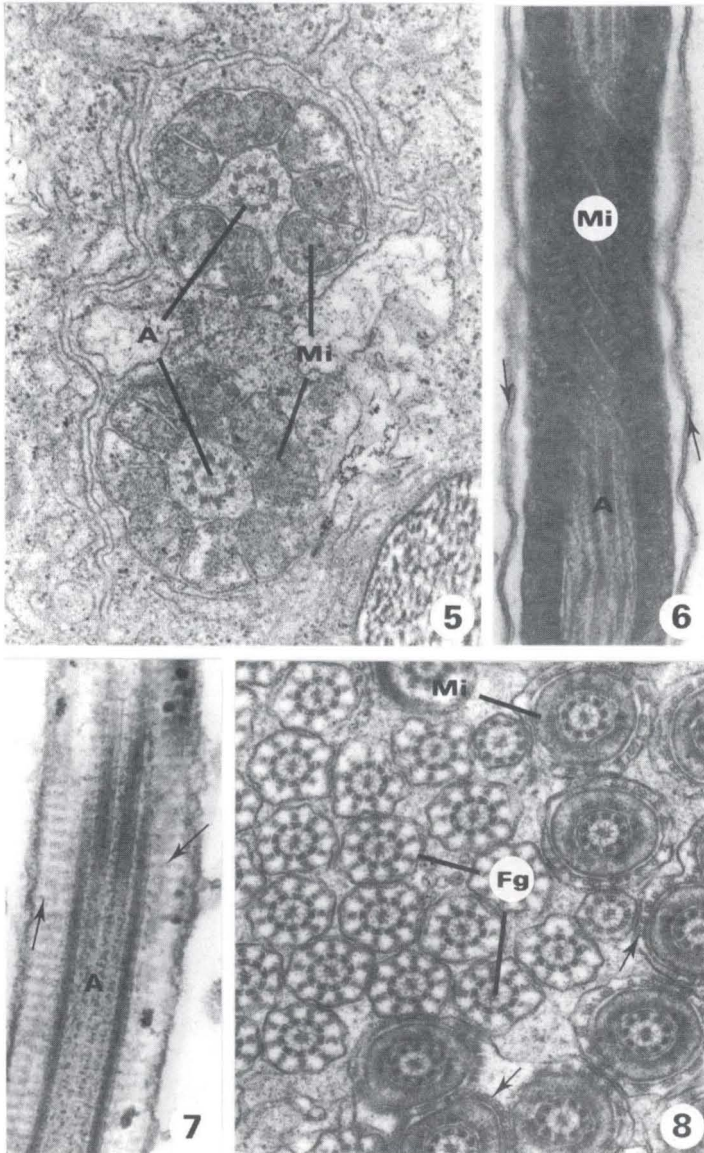
O espermatozóide de *Natica marochiensish* (Gmelin, 1791) é constituído por cabeça, com complexo acrosômico e núcleo, peça intermediária e cauda (Figs 1-2). Na fase de espermátide, a vesícula acrosômica apresenta uma forma esférica (Fig. 3) ocorrendo no seu interior a deposição de material eletrodensidade (*inset* Fig. 3).

Posteriormente na fase de espermatozóide, a vesícula acrosômica modifica-se para uma forma cônica, sendo o seu interior constituído por zonas com diferentes eletrodensidades. O núcleo apresenta uma forma cilíndrica e encontra-se posicionado anteriormente em relação à peça intermediária (Fig. 4). Esta peça é ocupada por um complexo centriolar envolvido por mitocôndrias que apresentam uma forma aproximadamente esférica, em corte transversal (Fig. 5). Estas mitocôndrias em corte longitudinal, encontram-se envolvendo o axonema obliquamente e contém poucas cristas distribuídas irregularmente (Fig. 6). O centríolo proximal está localizado dentro da fossa nuclear e o distal apresenta-se constituído por 9p+2 microtúbulos. No flagelo entre o axonema e a membrana citoplasmática existe deposição de material granular com a função de substância de reserva (Figs 7-8).

DISCUSSÃO

Os espermatozóides de *Natica marochiensish* descritos neste estudo e outros espermatozóides descritos em outros trabalhos (AZEVEDO 1981; SMALDON & DUFUS 1985) apresentam a forma de espermatozóide do tipo "primitivo". Existe pequena diferença entre as estruturas da peça intermediária e flagelo, mas o núcleo e o acrosoma são muito semelhantes na observação morfológica, havendo possibilidade de identificação de cada espécie por meio destas estruturas. Estudos comparativos da estrutura espermática de moluscos gastrópodes tem resultados similares a esta conclusão (THOMPSON 1973; HEALY 1983; HEALY & WILLAN 1984; SUMIKAWA & FUNAKOSHI 1984). O fato de que estas espécies possuem um espermatozóide com uma única forma sugere que a morfologia pode ser válida para um caráter taxonômico (JAMIESON 1991; HEALY 1993).

A similaridade na estrutura espermática de cada grupo sugere também que em todos haja um ancestral comum. Muitos dos acrosomas tem áreas de eletrodensidade e eletrolucidez. Poucas diferenças têm sido mostradas nos acrosomas de bivalves (POPHAM 1974; BERNARD & HODGSON 1985) e em gastrópodes (LEWIS



Figs 5-8. (5) Corte transversal da peça intermediária de dois espermatozóides ao ME evidenciando-se o axonema (A) rodeado por mitocôndrias (Mi), 0,5 μ m; (6) corte longitudinal da peça intermediária (ME) mitocôndrias enroladas obliquamente ao longo do axonema e a membrana citoplasmática (setas), 0,5 μ m; (7) corte longitudinal do flagelo de um espermatozóide ao ME: axonema (A) – (setas) fibrilas de substâncias de reserva, 0,25 μ m; (8) corte transversal (ME) de flagelos (Fg), mitocôndria (Mi) e microtúbulos (setas), 0,5 μ m.

et al. 1980). Estas regiões de diferentes eletrodensidades podem provavelmente refletir funções diferentes dos acrosomas durante o processo de fertilização.

Alguns acrosomas apresentam uma estriação transversal, e o significado funcional disto propõe uma periodicidade do conteúdo acrosomal representando um alinhamento cristalino de enzimas (FRIEND & FAWCETT 1974).

AGRADECIMENTOS. À Profa. Dra. Yoko Wakabara (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 BIBLIOGRÁFICA

- AZEVEDO, C. 1981. The fine structure of the spermatozoon of *Patella lusitanica* (Gastropoda: Prosobranchia), with special reference to acrosome formation. **Jour. Submicrosc. Cytol.** **13**: 47-56.
- BACCETTI, B. & B.A. AFZELIUS. 1976. **The biology of the sperm cell**. Basel, S. Karger, vol. 10.
- BERNARD, R.T.F. & A.N. HODGSON. 1985. Fine structure of the sperm and spermatid differentiation in the brown mussel *Perna perna*. **S. Afr. Jour. Zool.** **20**: 5-9.
- FRIEND, D.S. & D.W. FAWCETT. 1974. Membrane differentiations in freeze-fractured mammalian sperm. **Jour. Cell. Biol.** **63**: 6411-6664.
- HEALY, J.M. 1983. Ultrastructure os spermatozoa of cerithiacean gastropods (Prosobranchia: Mesogastropoda). **Jour. Morphol.** **178**: 57-75.
- . 1993. Transfer of the gastropod family plesiotrochidae to the campaniloidea based on sperm ultrastructural evidence. **Jour. Moll. Stud.** **59**: 135-146.
- HEALY, J.M. & R.C. WILLAN. 1984. Ultrastructure and phylogenetic significance of notaspidean spermatozoa (Mollusca, Gastropoda, Opisthobranchia). **Zool. Scr.** **13**: 107-120.
- HINSCH, G.W. 1974. Comparative ultrastructure of cnidarian sperm. **Am. Zool.** **14**: 457-465.
- JAMIESON, B.G.M. 1991. **Fish evolution and Systematics: evidence from spermatozoa**. Cambridge, Cambridge University Press, 319p.
- LEWIS, C.A.; D.L. LEIGHTON; V.D. VACQUIER. 1980. Morphology of abalone spermatozoa before and after the acrosome reaction. **Jour. Ultrastruct. Res.** **72**: 39-46.
- MATOS, E.; P. MATOS; E. OLIVEIRA & C. AZEVEDO. 1993. Ultraestrutura da espermatogênese do tamoatá *Hoplosternum littorale* (Hancock) (Teleostei, Callichthyidae) do rio Amazonas. **Revta bras. Zool.** **10**: 215-218.
- MAXWELL, W.L. 1983. Mollusca, p. 275-319. In: K.C. ADIYODI & R.G. ADIYODI (Eds). **Reproductive biology of invertebrates. Spermatogenesis and sperm function**. Chichester, John Wiley and Sons, vol. 2.
- POPHAM, J.D. 1974. The acrosome reaction in the sperm of the shipworm *Bankia*

- australis* Calman (Bivalvia, Mollusca). **Cell. Tissue. Res.** **151**: 93-101.
- SMALDON, P.R. & J.H. DUFUS. 1985. An ultrastructural study of gametes and fertilization in *Patella unegata* L.. **Jour. Moll. Stud.** **51**: 116-132.
- SUMIKAWA, S. & C. FUNAKOSHI. 1984. The fine structure of mature spermatozoa in two species of the Siphonaridae (Pulmonata: Basommatophora). **Venus** **42**: 143-155.
- THOMPSON, T.E. 1973. Euthyneuran and other molluscan spermatozoa. **Malacologia** **14**: 167-206.
- TOMPA, A.S. 1984. Land snails (Stylommatophora), p.47-140. *In*: A.S. TOMPA; N.H. VERDONK & J.A.M. VAN DEN BIGGELAAR (Eds). **The Mollusca**. Reproduction. New York, Academic Press, vol. 7.

Recebido em 04.VII.1996; aceito em 04.IX.1997.