

ASPECTOS DA ESPERMATOGÊNESE DE TUCUNARÉ, *Cichla ocellaris* Schneider, 1801 (TELEOSTEI, CICHLIDAE).

Carmina da Cruz Landim (\*)

Maria Alice da Cruz Höfling (\*\*)

SUMMARY

Sequential cytological events of *Cichla ocellaris* spermatogenesis were studied with electron microscopy from the 1st spermatocyte to the mature spermatozoa. Five stages of spermatid maturation were described.

INTRODUÇÃO

Um número razoável de estudos sobre a espermatogênese de teleosteos, tem aparecido nos últimos anos (Stanley, 1969; Mattei e Mattei, 1973 e 1978; Grier, 1973; Clerot, 1979; Bruslé, 1981; Billard, 1983). A maioria deles, no entanto, tem escopo limitado a determinados aspectos, seja do espermatozoide, seja da espermiogênese e refere-se a uma única espécie. Assim sendo, antes que se possa ter uma visão geral do processo espermatogênico nos peixes teleosteos, muitos outros trabalhos serão necessários.

No caso particular dos peixes brasileiros, praticamente nada tem sido feito sobre a produção das células gaméticas em si, mormente a nível ultraestrutural, razão pela qual nos decidimos a apresentar a presente contribuição.

MATERIAL E MÉTODOS

Especimens de *Cichla ocellaris* foram coletados no Rio Negro durante o mês de julho. Fragmentos de testículos com aproximadamente 1 mm de lado foram fixados a 4°C em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M a pH 7,4; por duas horas. Após lavagem no tampão os fragmentos foram post-fixados em tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão, durante 1 hora. O tecido foi então desidratado em série crescente de álcool etí

---

(\*) Departamento de Biologia, Instituto de Biociências de Rio Claro, UNESP, Rio Claro, SP.

(\*\*) Departamento de Embriologia e Histologia, Instituto de Biologia UNICAMP, Campinas, SP.

lico, seguido de duas trocas de óxido de propileno. A inclusão foi feita na mistura de Epon-Araldite, os cortes em ultra-microtomo Porter Blum MT2 com navalhas de vidro e a contração com solução aquosa saturada de acetado de uranila (30 min) e citrato de chumbo (5 min). Os cortes foram examinados e fotografados em microscópio Zeiss EM9 S2.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a maturação sexual o testículo dos tucunarés apresenta a organização típica do testículo dos teleosteos. Os túbulos seminíferos são constituídos de cistos espermatogênicos delimitados por uma única camada de células, correspondentes às células de Sertoli (Fig. 1a e 1b). As células germinativas dentro de um determinado cisto desenvolvem-se sincronicamente e todos os estágios da espermatogênese são facilmente identificáveis. Encontram-se cistos em todas as fases da espermatogênese e a medida que os espermatozoides amadurecem nos cistos, são liberados na luz do túbulo seminífero (Fig. 1a e 1b).

Os cistos que contêm espermatogônias geralmente apresentam poucas células, uma ou duas. Naqueles em que a espermatogênese está se processando encontram-se numerosas células interconectadas entre si por pontes citoplasmáticas, conforme já verificado por Bruslé e Bruslé (1978) em espermátocitos primários. Estas pontes encontram-se entre todas as células do cisto (Fig. 3a) inclusive entre as espermátides em diferenciação.

Os espermátocitos primários desta espécie são células pequenas, com núcleo volumoso e pequena quantidade de citoplasma. Nestes destacam-se as mitocôndrias pequenas, com muitas cristas e matriz eletrondensa, pouco numerosas, e muitos ribossomos livres. No núcleo é freqüente encontrarem-se complexos sinaptonêmicos, figuras típicas do início da profase I da meiose (Fig. 2a).

Os cistos contendo espermátocitos secundários apresentam com freqüência mitoses (Fig. 2b) que não diferem no aspecto das figuras mitóticas típicas.

No amadurecimento das espermátides puderam ser distinguidos cinco tipos citológicos diferentes, caracterizados especialmente por mudanças no aspecto do conteúdo nuclear, que são aqui considerados como estágios de maturação.

O primeiro estágio é constituído por espermátides que se encontram agrupadas dentro dos cistos, interligadas por pontes citoplasmáticas. Estas células apresentam aproximadamente o mesmo tamanho dos espermátocitos primários e dos secundários, e como aqueles, núcleo esférico e grande em relação ao volume do citoplasma. A cromatina apresenta-se irregularmente condensada e o nucléolo é volumoso. No citoplasma encontram-se mitocôndrias, complexos de Golgi, centríolos em sua proximidade, e muito pouco retículo endoplasmático granular.

As espermátides do segundo estágio apresentam as mesmas características mas, a cromatina apresenta-se uniformemente condensada sob a forma de grânulos homogeneamente distribuídos, com ocasionais agrupamentos pequenos e esparsos (Fig. 3a). As mitocôndrias apresentam-se esféricas e agrupadas em determinado ponto do citoplasma, próximo ao núcleo.

Os ribossomos apresentam-se sob a forma de polissomos.

As espermatídes de terceiro estágio apresentam-se menores que as anteriores, ainda interligadas por pontes citoplasmáticas. O núcleo continua esférico mas, a cromatina de maneira geral apresenta-se menos densa e com formação de diversas regiões de condensação de forma ligeiramente alongada (Fig. 3b). A quantidade de citoplasma ao redor do núcleo apresenta-se mínima uma vez que todos os seus constituintes se deslocaram para um dos polos da célula, incluindo o centríolo, a partir do qual se alonga um flagelo (Fig. 3b). O Golgi não é mais visível.

No estágio seguinte verifica-se que o núcleo deixa de ser esférico, sofrendo uma indentação no polo que se encontra em contacto com o centríolo, reentrância em que este passa a se localizar. A cromatina apresenta-se sob a forma de grumos grosseiros interligados por filamentos. Os grumos acumulam-se de preferência no polo oposto aos centríolos (Fig. 3c) ficando filamentos e grânulos finos na porção do núcleo que os rodeia. O citoplasma se estende ao redor da parte inicial do flagelo, formando uma bainha em cuja porção juxtenuclear estão colocadas as mitocôndrias (Fig. 3c).

O quinto e último estágio de desenvolvimento das espermatídes se caracteriza pela completa compactação da cromatina nuclear. O núcleo apresenta-se com forma de rim e com contornos levemente irregulares. Umhas poucas mitocôndrias se agrupam ao redor dos centríolos e a bainha citoplasmática do flagelo se afina, limitando-se quase que exclusivamente às membranas plasmáticas justapostas (Fig. 4b). As pontes citoplasmáticas entre as espermatídes se rompem.

Os espermatozoides formados por esse processo de amadurecimento das espermatídes podem ser basicamente divididas em uma cabeça e uma cauda.

A cabeça é formada pelo núcleo em forma de rim, de alta densidade eletrônica. Na reentrância do núcleo localizam-se dois centríolos: o centríolo proximal dentro da depressão, a noventa graus do distal que da origem ao flagelo. Ao redor do núcleo há uma fina película citoplasmática que aumenta em espessura ao redor dos centríolos e porção inicial do flagelo, onde se localizam as mitocôndrias, esféricas e com poucas cristas (Fig. 4c).

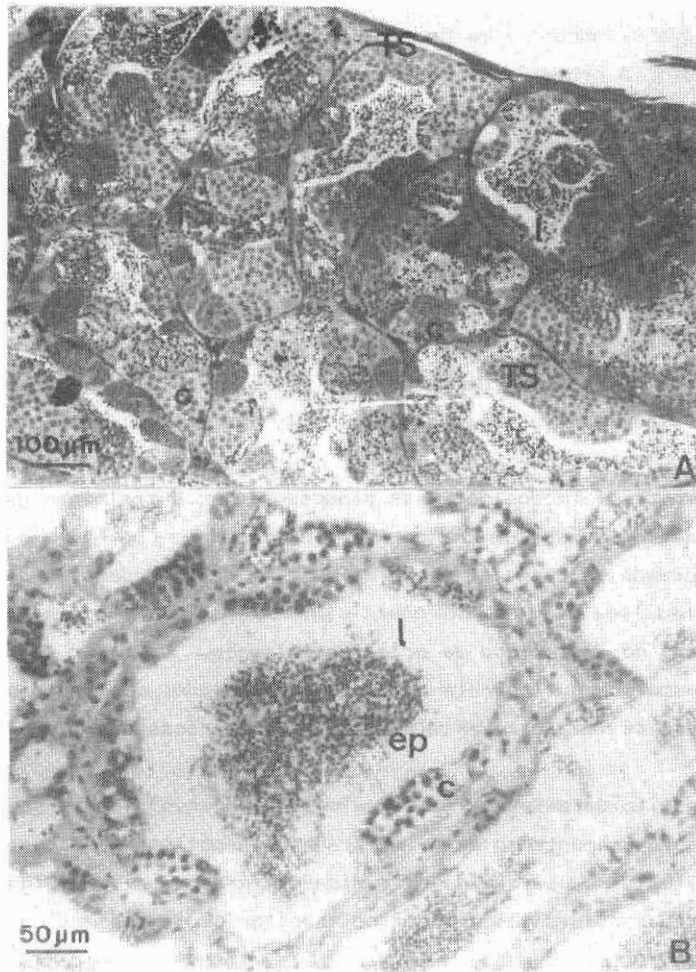
A cauda é constituída essencialmente pelo flagelo envolvido em seu 1/3 inicial por uma bainha formada praticamente só pelas membranas plasmáticas justapostas. Uma pequena quantidade de citoplasma aparece na extremidade livre da bainha (Fig. 4c). O flagelo é do tipo 9 + 2 e apresenta também um fino envoltório citoplasmático que se expande formando alargamentos laterais que dão ao seu corte transversal aspecto fusiforme.

Este espermatozoide é considerado do tipo primitivo não tendo acrossomo e nem peça mediana definida.

## RESUMO

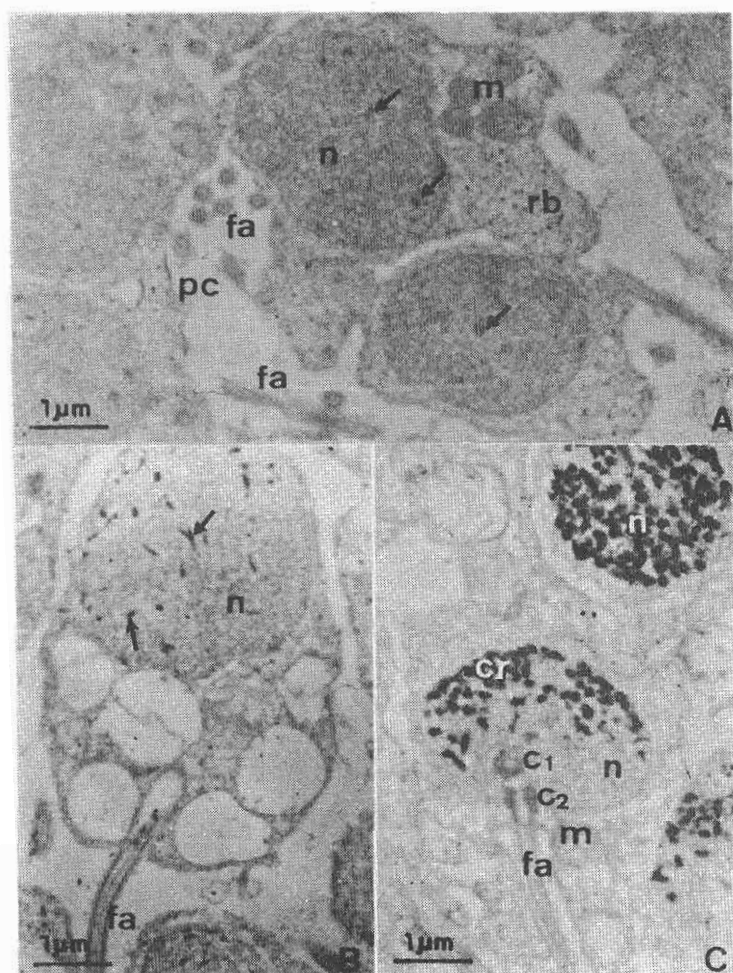
*São descritos os eventos citológicos seqüenciais da espermatogênese de Cichla ocellaris (tucunarê) desde o espermatócito primário até ao espermatozoide maduro. Verifi-*

cou-se que a espermiogênese compreende cinco diferentes estágios de maturação das espermatídes, caracterizadas por transformações da cromatina nuclear e das estruturas citoplasmáticas. O espermatozóide da espécie é do tipo primitivo, apresentando uma cabeça sem acrosso e uma cauda.



**Fig. 1.** Aspectos do testículo de tucunaré ao microscópio óptico.

- A. Túbulos seminíferos (TS) cortados transversalmente, mostrando a parede formada por cistos (c) de células germinativas, em diferentes fases de desenvolvimento.
- B. Corte transversal de um túbulo seminífero, mostrando espermatozoides (ep) na luz (l).



**Fig. 3.** Aspectos da maturação das espermatídes.

- A. espermatídes do 29º estágio em cujos núcleos (n) as setas apontam agrupamentos de grânulos cromatínicos.
- B. Espermatídes de 39º estágio na qual a cromatina inicia a formação de grunos (setas).
- C. espermatídes de 49º estágio com grunos cromatínicos (cr) ligados por fibrilas.
- fa = flagelo; m = mitocôndrias; rb = ribossomos; pc = ponte citoplasmática; c<sub>1</sub> = centríolo proximal; c<sub>2</sub> = centríolo distal.

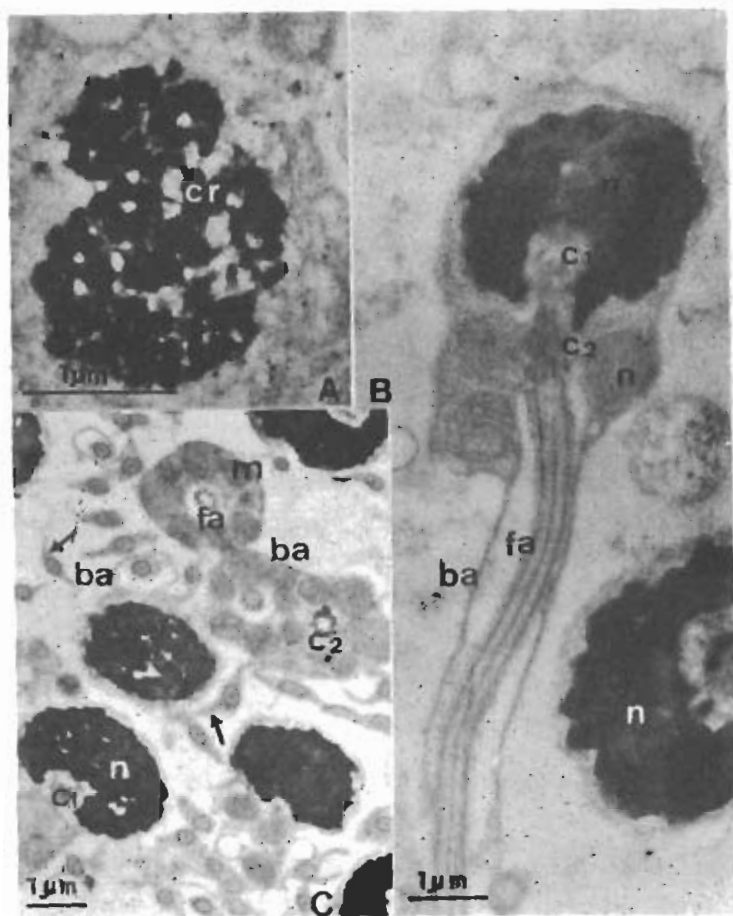


Fig. 4. Maturação final da espermatíde.

A. Núcleo de espermatíde do 4º estágio, mostrando o aspecto da cromatina (cr).

B. Cortes de espermatídes de 5º estágio mostrando a compactação do núcleo (n), a bainha citoplasmática (ba) ao redor do flagelo (fa) e as expansões laterais do citoplasma ao redor do flagelo (setas).

C. Espermatozoíde maduro.

m = mitocôndrias;  $c_1$  = centríolo proximal;  $c_2$  = centríolo distal.

### Referências bibliográficas

- Billard, R. - 1983. Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). An ultrastructural study. *Cell Tissue Res.*, 233: 265, 284.
- Bruslé, S. & Bruslé, J. - 1978. An ultrastructural study of early germ cells in *Mugil (Liza) auratus* Risso 1810 (Teleostei: Mugilidae). *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, 18: 1141-1153.
- Bruslé, S. - 1981. Ultrastructure of spermiogenesis in *Liza aurata* Risso 1810 (Teleostei, Mugilidae). *Cell Tissue Res.*, 217: 415-424.
- Clérot, J. C. - 1979. Les groupement mitochondriaux des cellules germinales des poissons Téléostéens. Cyprinidés. II. Étude autoradiographique à haute résolution de l'incorporation de phénylalanine <sup>3</sup>H et d'uridine <sup>3</sup>H. *Exptl. Cell Res.*, 120: 237-244.
- Grier, H. J. - 1973. Ultrastructure of the testis in the teleost *Poecilia latipinna*. Spermiogenesis with reference to the intercentriolar lamellated body. *J. Ultrastruct. Res.*, 45: 82-92.
- Mattei, C. & Mattei, X. - 1973. La spermiogènese d'*Albula vulpes* (L. 1758) (Poisson Abulidae). Etude ultrastructurale. *Z. Zellforsch.*, 142: 171-192.
- Mattei, C. & Mattei, X. - 1978. La spermiogènese d'un poisson Téléostéen (*Lepadogaster lepadogaster*). I. La spermatide. *Biol. Cellulaire*, 32: 257-266.
- Stanley, H. P. - 1969. An electron microscope study of spermiogenesis in the teleost fish *Oligocottus maculosus*. *J. Ultrast. Res.*, 27: 230-243.

(aceito para publicação em 26.03.1986)