

# ESTUDO ULTRAESTRUTURAL DA ESPERMATOGÊNESE DE *DONAX STRIATUS* LINNAEUS (MOLLUSCA, BIVALVIA) DO LITORAL NORTE DO BRASIL

E. Matos<sup>1</sup>

P. Matos<sup>2</sup>

L. Corral<sup>3</sup>

C. Azevedo<sup>3</sup>

**ABSTRACT.** ULTRASTRUCTURAL STUDY OF THE SPERMATOGENESIS OF *DONAX STRIATUS* LINNAEUS (MOLLUSCA, BIVALVIA) FROM BRAZIL NORTHERN LITTORAL. The fine structure of the sperm and spermatogenesis of the *Donax striatus* are described. The morphology of the spermatozoa is classified as of a primitive type with a head, mid-piece with four mitochondria and tail. The head shows a complex acrosome, typical of heterodont bivalves. During spermatogenesis the nuclear chromatin shows granular condensation. The present paper describes detailed observations of the spermatozoa.

**KEY WORDS.** Ultrastructure, Spermatozoa, Mollusca Bivalvia

Os bivalves do gênero *Donax* são habitantes comuns do sedimento marinho de região temperada e tropical do mundo (ANSELL 1983). *Donax striatus* é membro da macrofauna do litoral norte do Brasil. A importância deste animal no ecossistema de areias de praia é pouco conhecida, e principalmente sobre o ciclo reprodutivo, onde poucos trabalhos são encontrados no gênero *Donax* (DE VILLIERS 1975; MCLACHLAN & HANEKOM 1979; MCLACHLAN & VAN DER HORST 1979; HODGSON *et al.* 1990). Neste trabalho apresenta-se a primeira descrição da estrutura do espermatozóide e espermato gênese do molusco bivalve *Donax striatus* no litoral norte do Brasil.

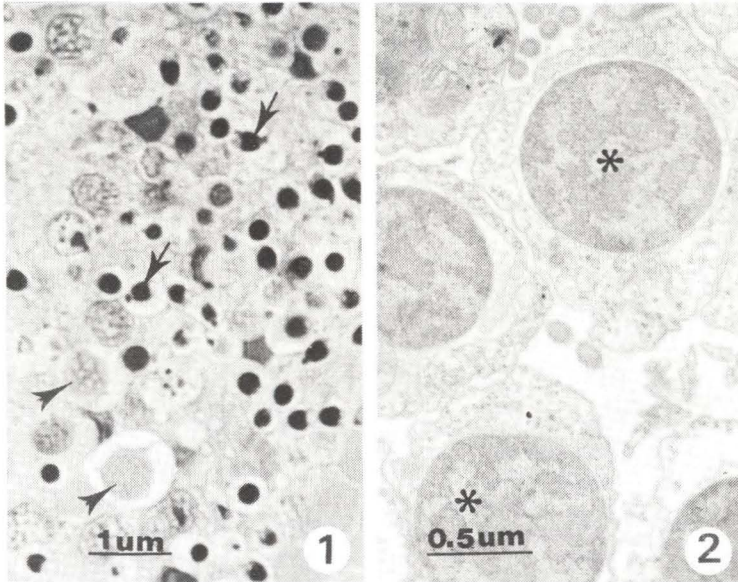
## MATERIAL E MÉTODOS

Animais foram coletados nas praias de Ajuruteua (00°50'55"S e 46°36'30"W) e Salinópolis (00°36'47"S e 47°21'30"W) e transportados para Belém, onde no laboratório foram retiradas as gônadas e preparadas para microscopia óptica e eletrônica. Os fragmentos de testículos foram retirados imediatamente,

1) Departamento de Biologia Animal - Histologia e Embriologia, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Av. Tancredo Neves, 66077-530 Belém, Pará, Brasil.

2) Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal do Pará, 66059-900 Belém, Pará, Brasil.

3) Departamento de Biologia Celular, IMAR-Instituto do Mar, Universidade do Porto-Portugal, 4000 Porto, Portugal.



Figs 1-2. (1) Corte semifino do testículo de *Donax striatus* - células germinativas são observadas variando o estágio de desenvolvimento - células iniciais (cabeças de setas), espermatozoides (setas); (2) grupo de espermatócitos (\*) em início da fase de espermiogênese.

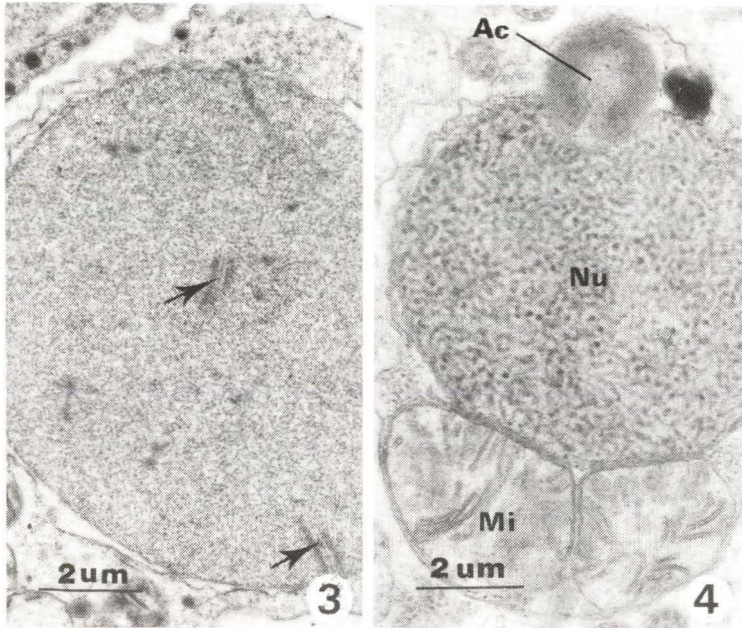
confirmados em MO, e fixados para microscopia eletrônica, em glutaraldeído a 3% tamponado com cacodilato de sódio a 0,2M, pH 7,4 durante três horas a 4°C. Depois de lavados no mesmo tampão, durante duas horas a 4°C, os fragmentos foram pós-fixados, durante duas horas a 4°C, em tetróxido de ósmio a 2% devidamente tamponado. Sequencialmente os fragmentos foram desidratados em série crescente de álcool, seguida de três passagens em óxido de propileno. Depois de bem desidratado o material foi incluído em Durcupan (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 100CXII operando a 60Kv.

## RESULTADOS

Em corte semifino observamos as espermatogonias localizadas periféricamente e os espermatozoides maduros caminham para a região central dos lobos testiculares (Fig. 1).

Espermatogênese: o processo de espermatogênese é semelhante ao de *D. serra* Dillwin, 1817, *D. sordidus* Hanley, 1845 e *D. madagascariensis* Wood, 1828, entretanto uma simples descrição é necessária, pois as espermatogonias localizam-se na base dos lobos testiculares e as células espermáticas maduras estão deslocadas para o centro dos mesmos.

As espermatogonias estão caracterizadas por um núcleo arredondado com o nucléolo proeminente, eletrodense. O núcleo apresenta pequenos grumos de cromatina associado a membrana nuclear. O citoplasma de todas as espermatogonias contém numerosas mitocôndrias, ribossomas livres e pequenas regiões de retículo endoplasmático rugoso.



Figs 3-4. (3) Eletromicrografia de pormenor ultraestrutural de espermatócito em zigóteno - complexo sinaptonêmicos (setas); (4) aspecto longitudinal de espermatíde - acrosoma (Ac), núcleo (Nu), mitocôndria (Mi).

Os espermatócitos apresentam núcleo ligeiramente achatado, sem evidência nuclear, e cromatina mais dispersa (Fig. 2). Podemos observar complexos sinaptonêmicos (Fig. 3). O citoplasma apresenta formações eletrodensas, membrana de complexo pró-acrosomal.

As espermatídes apresentam núcleo arredondado e que progressivamente para atingir a fase final de maturação, sofre pequena modificação para ovóide achatado, com modificação de arrumação de cromatina nuclear, inicialmente uma cromatina nuclear esférica. Observa-se também a iniciação de uma vesícula pré-acrosomal (Fig. 4).

O espermatozóide apresenta núcleo achatado e na região anterior ao complexo acrosomal está localizada a fossa nuclear ou fossa acrosomal (Figs 5-6).

O acrosoma de *Donax striatus* é cônico, comprimindo duas regiões de diferentes eletrodensidades. A porção anterior e central é radiolúcida e a porção basal é radiopaca, aparentando apresentar espaços lamelares. Internamente três

regiões podem ser reconhecidas: uma região anterior radiolúcida restrita a esta região e a maior parte do material acrosômico é mais eletrodensa e dividido em duas distintas áreas morfológicamente (Figs 6-7).

A peça intermediária corresponde a 4 mitocôndrias esféricas com numerosas cristas bem desenvolvidas (Fig. 6). No centro da ponte mitocondrial observamos os centríolos proximal e distal (Fig. 7). A cauda com o normal arranjo de  $9p + 2$  microtubulos emerge do centríolo distal (Fig. 7).

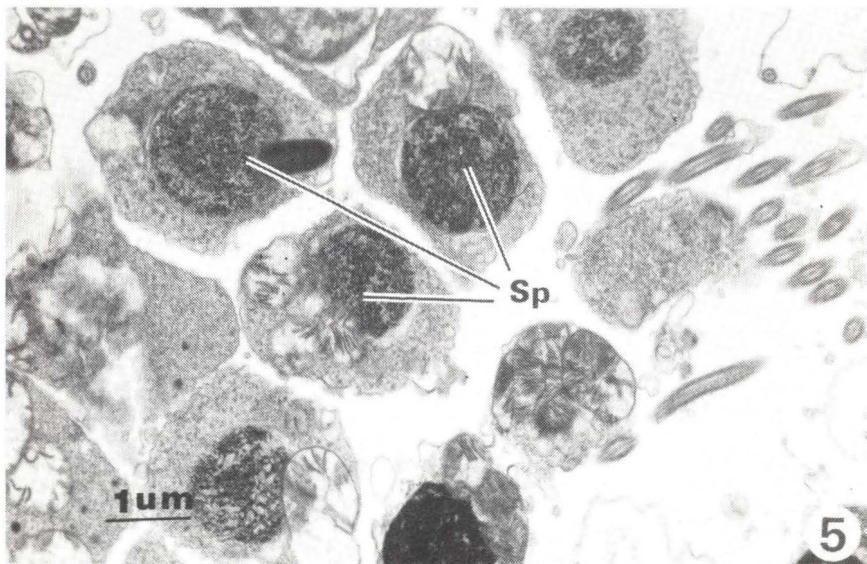
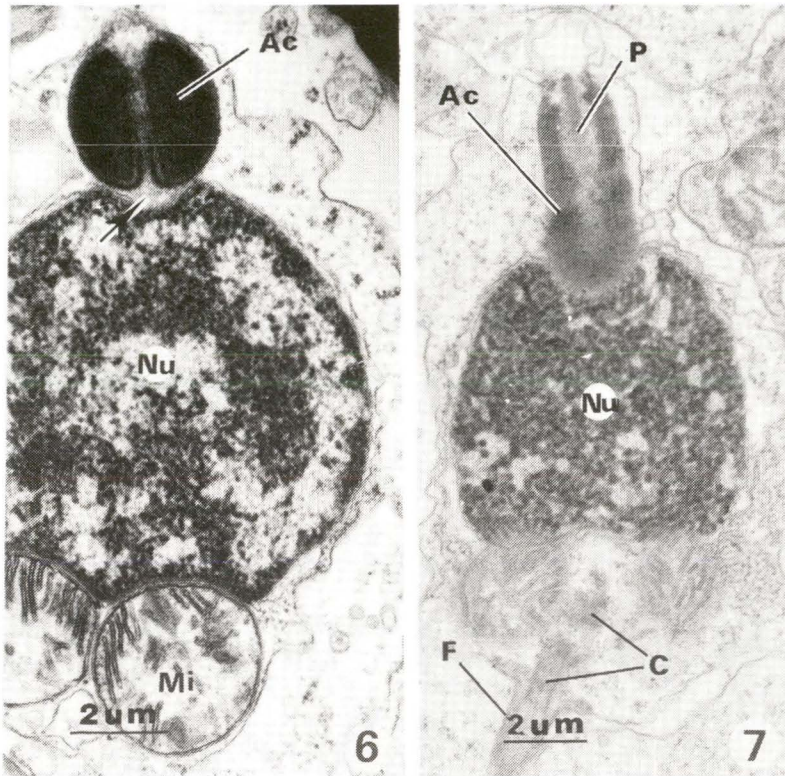


Fig. 5. Aspecto transversal de espermatozóides em fases de maturação (Sp.).

## DISCUSSÃO

O espermatozóide de *Donax striatus* examinado é do tipo primitivo (FRANZÉN 1983). ROUSE e JAMIESON (1987) propõe para o gênero *Donax*, morfologia e modo de fertilização. Os espermatozóides de *D. sordidus* e *D. madagascariensis* apresentam similaridades variando apenas como modificações nas dimensões (HODGSON *et al.* 1990), cujos achados não apresentam surpresas para KILBURN & RIPPEY (1982). Para os espermatozóides do gênero *Donax*, subclasse Heterodonta, não existem modificações significativas para outros heterodontes (POPHAM 1974 a,b; POPHAM *et al.* 1974; POPHAM 1979; FRANZÉN 1983; MAXWELL 1983). Outros achados apresentam suposições de que as estruturas espermáticas possam ser avaliadas como características de estudos taxonômicos (FRANZÉN 1970, 1983; POPHAM 1979; HODGSON & BERNARD 1986).

O núcleo e a peça intermediária dos espermatozóides de *Donax* são tipicamente denominados de ect-aquasperm (ROUSE & JAMIESON 1987). O acroso-



Figs 6-7. (6) Corte tangenciando espermatozóide em fase inicial de maturação; (7) espermatozóide em fase final de maturação. Acrosoma (Ac), centríolo (C), flagelo (F), fossa acrosômica (seta), mitocôndria (Mi), núcleo (Nu), perforatório (P).

ma pode ser diferenciado pela eletrodensidade e radiolucidez de regiões, fato característico de alguns bivalves (POPHAM 1974 a,b; HYLANDER & SUMMERS 1977; FRANZÉN 1986; MAXWELL 1983; HODGSON & BERNARD 1986). Estas regiões de diferentes eletrodensidades provavelmente refletem funções do acrosoma durante a fertilização (POPHAM 1974b; HYLANDER & SUMMERS 1977). O conteúdo acrosomal tem sido descrito para outros moluscos (GALANGAU & TUSET 1968; LONGO & ANDERSON 1970; AZEVEDO 1981; SOUSA *et al.* 1989).

As mudanças estruturais ocorrem durante a espermatogênese e são similares para as descrições em outros invertebrados (ROOSEN-RUNGE 1977; ADIYODI & ADIYODI 1983; HODGSON 1986), desde a condensação cromatínica nuclear até a formação acrosomal pelo complexo de Golgi. Trabalhos sobre a presença de glicogênio na peça intermediária de espermatozóide de moluscos são bem documentados (ANDERSON & PERSONNE 1970; MAXWELL 1983).

Finalmente, alguns espermatozóides de *D. madagascariensis* apresentam defeitos da emergência da cauda no longo eixo do espermatozóide sem afetar a

fecundidade do animal devido a produção baixa de espermatozoides ( $10^{10}$  por ml) (HODGSON *et al.* 1990). Os autores evidenciaram que o *Donax striatus* é predado por um molusco gastrópoda, *Natica marochiensish* Gmelin, 1791, assim como, a região da gônada pode estar infestada por um tipo de platelminto que poderá levar a um estado de castração do animal.

AGRADECIMENTOS. A Profa Dra Yoko Wakabara da Universidade de São Paulo, pela identificação da espécie. Ao Sr. João Carneiro pelo serviço iconográfico. Trabalho parcialmente subsidiado pelo JNICT (Portugal), CNPq, UFPA e FCAP.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADIYODI, K.G. & R.G. ADIYODI. 1983. **Reproductive biology of Invertebrates**. II. Spermatogenesis and Sperm Function. Chichester, John Wiley & Sons.
- ANDERSON, W.A. & P. PERSONNE. 1970. The localization of glycogen in the spermatozoa of various invertebrate and vertebrate species. **J. cell. Biology**, **44**: 29-51.
- ANSELL, A.D. 1983. The biology of the genus *Donax*, p.539-546. In: A. McLACHLAN & T. ERASMUS (eds). **Sandy Beaches as Ecosystems**. Junk, The Hague.
- AZEVEDO, C. 1981. The fine structure of the spermatozoa of *Patella lusitanica* (Gastropoda, Prosobranchia) with special reference to acrosome formation. **J. Submicrosc. Cytol.** **13**: 47-56.
- DE VILLIERS, G. 1975. Reproduction of the sand mussel *Donax serra* Roding. **Investigational Report of the Sea Fisheries Branch South Africa 102**: 1-33.
- FRANZÉN, A. 1970. Phylogenetic aspects of the morphology of the spermatozoa and spermatogenesis, p.29-46. In: B. BACCETTI (ed.). **Comparative Spermatology**. New York, Academic Press.
- . 1983. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. **Gamete Research 7**: 199-214.
- GALANGAU, V. & O. TUZET. 1968. L acrosome d *Octopus vulgaris* Lmk.: Observations au microscope électronique. **Comptes Rendus De L Academie des Sciences, Paris**, **2670**: 1462-1467.
- HODGSON, A.N. 1986. Invertebrate spermatozoa: Structure and spermatogenesis. **Archives of Andrology 17**: 105-114.
- HODGSON, A.N. & R.T.F. BERNARD. 1986. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia). **Gamete Research 15**: 123-135.
- HODGSON, A.N.; R.T.F. BERNARD & G. VAN DER HORST. 1990. Comparative spermatology of three species of *Donax* (Bivalvia) from South Africa. **J. Moll. Stud.** **56**: 257-265.
- HYLANDER, B.L. & R.G. SUMMERS. 1977. An ultrastructural analysis of the gametes and early fertilization in two bivalve molluscs *Chama macerophylla*

- and *Spisula solidissima* with special reference to gamete binding. **Cell & Tissue Res.** **182**: 469-489.
- KILBURN, R. & E. RIPPEY. 1982. **Sea Shells of Southern Africa**. South Africa, Macmillan, 248p.
- LONGO, F.J. & E.J. ANDERSON. 1970. Structural and cytochemical features of the sperm of the cephalopod *Octopus bimaculatus*. **J. Ultrastruc. Res.** **32**: 94-106.
- MATOS, E.; P. MATOS; E. OLIVEIRA & C. AZEVEDO. 1993. Aspectos morfológicos e ultraestruturais do espermatozóide de Ermitão *Clibanarius vittatus* Bosc, 1802 (Crustacea, Decapoda) do litoral norte do Brasil. **Rev. bras. Ciênc. morfol.** **10**: 126-131.
- MAXWELL, W.L. 1983. Mollusca, 275-319. In: K.G. ADIYODI & R.G. ADIYODI (eds). **Reproductive Biology of Invertebrates**. V. II: Spermatogenesis and Sperm Function. Chichester, John Wiley & Sons.
- MCLACHLAN, A. & N. HANEKOM. 1979. Aspects of the biology, ecology and seasonal fluctuations and biochemical composition of *Donax serra* in the east Cape. **South African J. Zoology** **14**: 183-193.
- MCLACHLAN, A. & G. VAN DER HORST. 1979. Growth and production of two molluscs from an exposed sandy beach. **South African J. Zoology** **14**: 194-201.
- POPHAM, J.D. 1974a. Comparative morphometrics of the acrosomes of the sperms of "externally" and "internally" fertilizing sperms of the shipworms (Teredinidae, Bivalvia, Mollusca). **Cell. Tissue Res.** **150**: 291-297.
- . 1974b. The acrosome reaction in the sperm of the shipworm *Bankia australia* Calman (Bivalvia, Mollusca). **Cell Tissue Res.** **151**: 93-101.
- . 1979. Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogeny. **Malacological Review** **12**: 1-20.
- POPHAM, J.D.; M.R. DICKSON & C.K. GODDARD. 1974. Ultrastructural study of the mature gametes of two species of *Bankia* (Mollusca: Teredinidae). **Austr. Jour. Zool.** **22**: 1-12.
- ROSEN-RUNGE, E.C. 1977. **The process of spermatogenesis in animals**. Cambridge, Cambridge University Press.
- ROUSE, G. & B.G.M. JAMIESON. 1987. An ultrastructural study of the spermatozoa of the polychaetes *Euryhoe complanata* (Amphinomidae), and *Clymenella* sp., and *Micromaldane* sp. (Maldanidae), with a definition of sperm types in relation to fertilization biology. **J. Submicrosc. Cytol.** **19**: 573-584.
- SOSA, M.; L. CORRAL & C. AZEVEDO. 1989. Ultrastructural and cytochemical study of spermatogenesis in *Scrobicularia plana* (Mollusca, Bivalvia). **Gamete Res.** **24**: 383-401.