

ULTRAESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE DEL MACHO CABRÍO ENANO AFRICANO (*Capra hircus*)

Faisal F¹, Laplace R², Soto AT³, Migliorisi L³, Gómez V³, Jurado S¹

¹Servicio Central de Microscopía Electrónica.

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

²Jardín Zoológico y Botánico de La Plata, Municipalidad de La Plata.

³Catedra de Reproducción Animal.

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata

Resumen: Se realizó el estudio y descripción de la ultraestructura de los espermatozoides normales de los machos cabríos adultos enanos de Camerún (*Capra Hircus*) por medio de microscopía electrónica de transmisión. La cabeza tuvo forma oval o de raqueta plana, con una base cuadrada, que proporcionó un espacio cóncavo para la cola. El acrosoma cubrió estrechamente los dos primeros tercios de la cabeza. El clásico patrón de 9 + 9 + 2 pares de microtúbulos que componen el axonema fue observado a lo largo de tres los segmentos de la cola. El límite entre la pieza intermedia y la pieza principal estuvo bien definido por la presencia del anillo de Jensen o annulus. Los resultados de los estudios ultraestructurales de los espermatozoides de los machos cabríos adultos enanos de Camerún fueron similares a lo informado para los espermatozoides de otros rumiantes.

Palabras clave: espermatozoides, ultraestructura, *Capra hircus*.

SPERMATOOA ULTRASTRUCTURE OF THE DWARF AFRICAN BUCK (*Capra hircus*)

Abstract: Conducted the study and description of the ultrastructure of normal sperm male goats adult dwarf of Cameroon (*Capra hircus*) by transmission electron microscopy. Head took shape oval or flat with a square base, which provided a concave space for the tail. The acrosome tightly covered the first two-thirds of the sperm head. The classic pattern of 9 + 9 + 2 pairs of microtubules that compose the axoneme was observed in three segments of the tail. The barrier between the midpiece and the principal piece was clearly defined by the presence of the Jensen's ring or annulus. The results of ultrastructural spermatozoa of the dwarf African bucks were similar to the other ruminants spermatozoas.

Key words: spermatozoa, ultrastructure, *Capra hircus*.

Fecha de recepción: 15/04/11

Fecha de aprobación: 20/05/11

Dirección para correspondencia: F. Faisal, Servicio Central de Microscopía Electrónica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

E-mail: ffaisal@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La aptitud reproductiva de un macho está dada por su potencia coeundi y generandi, y por su libido. Se considera que la evaluación de la calidad seminal es indispensable para demostrar la potencia generandi de un individuo. Las investigaciones realizadas en los diferentes aspectos de la calidad seminal no solo estuvieron direccionadas hacia la clínica, sino que el conocimiento adquirido también ha permitido el desarrollo de diferentes biotecnologías reproductivas las cuales son aplicadas tanto en animales domésticos como en especies silvestres, particularmente aquellas que están en peligro de extinción (1, 2, 3).

El estudio de las características estructurales y ultraestructurales de los espermatozoides de los mamíferos fue determinante para rever los conceptos de capacidad y potencial reproductivo de las diferentes especies animales (4, 5, 6, 7, 8). Es aceptado que las alteraciones morfológicas y estructurales de los espermatozoides y del plasma seminal están relacionadas con diferentes grados de infertilidad (9). Si bien existen diferencias en la ultraestructura de los espermatozoides entre las diferentes especies de mamíferos, los mismos mantienen una estructura semejante (10). Estructuralmente, en el espermatozoide se distinguen la cabeza y el flagelo, ambas estructuras cubiertas externamente por la membrana plasmática, y el acrosoma que recubre la porción apical de la cabeza (5, 8). Si bien, la microscopía óptica es de utilidad práctica y rutinaria para el análisis morfológico de los espermatozoides de los mamíferos (9), la microscopía electrónica de transmisión ha permitido conocer la ultraestructura celular y proveer de información detallada acerca de la integridad celular, lo cual no es posible obtener por medio de otras metodologías y contribuye a valorar la funcionalidad testicular y epididimaria (11).

La ultraestructura de los espermatozoides de los rumiantes se encuentra bien detallada para los bovinos (*Bos taurus*) (12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22). Sin embargo, la información existente sobre el tema en pequeños rumiantes (*Ovis aries* y *Capra hircus*) es menor, en particular sobre la ultraestructura espermática del macho cabrío enano africano (23).

El propósito de este estudio fue describir la ultraestructura de los espermatozoides normales de los machos cabríos adultos enanos de Camerún (*Capra hircus*) con el fin de aportar datos representativos de esta raza caprina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron machos cabríos adultos enanos de Camerún (*Capra hircus*) (n=5), clínicamente sanos, de 30- 35 Kg de peso vivo, mantenidos en cautiverio en el Jardín Zoológico y Botánico de la ciudad de La Plata, Buenos Aires Argentina

(latitud 34° 55' Sur, Longitud 57° 17' Oeste). La extracción de semen se realizó mediante un electroeyaculador Original Electronic Siremaster Eyaculator® (Ice Company - USA), cada quince días durante un año. Las muestras espermáticas para microscopía electrónica se obtuvieron una vez al mes, tomándose una alícuota de 15 µl. Las muestras fueron centrifugadas a 1.500 rpm durante 3 minutos a temperatura ambiente. El pellet obtenido fue fijado en glutaraldehído al 2 % (LADD Research Industries, INC) pH 7,4 durante 2 horas a 4 °C. Luego, se realizó una posfijación a 4 °C en tetróxido de osmio al 1 % (LADD Research Industries, INC) y posteriormente se deshidrató en una serie creciente de alcoholes (50°, 70°, 80°, 90° y alcohol absoluto) y acetona. Finalmente, se incluyó en resina Epoxi (LADD Research Industries, INC). Se realizaron cortes semifinos (3 µm) como orientación de campo en un ultramicrotomo Reichert - J. (Modelo Supernova) y se tiñeron con azul de toluidina (Schmid GMBH & CO.). Los cortes ultrafinos fueron de 60 nm y se montaron sobre grillas de cobre. El contraste de los cortes ultrafinos se realizó con acetato de uranilo al 1 % y solución de Reynolds de citrato de plomo (LADD Research Industries, INC). La observación, el registro fotográfico y la evaluación de la ultraestructura espermática se realizaron mediante un microscopio electrónico de transmisión Jeol JEM 1200 EX II.

En cada una de las muestras analizadas mediante microscopía electrónica de transmisión se estudiaron 100 espermatozoides. Para la descripción de la ultraestructura de los espermatozoides se consideraron dos partes principales, la cabeza y la cola, y esta última fue subdividida en cuatro porciones: cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal.

RESULTADOS

La cabeza se caracterizó por su forma de óvalo o raqueta plana con una base cuadrada la cual proporcionó un espacio cóncavo para la inserción de la cola y presentó externamente una división entre las áreas acrosomal y post-acrosomal (Fig. 1a). Ultraestructuralmente, la membrana plasmática se observó lisa en toda su extensión. El núcleo, cubierto por una doble membrana, abarcó la totalidad de la cabeza y presentó una cromatina densa con algunas pequeñas vacuolas distribuidas al azar (Fig. 1b y c). La parte superior de la cabeza estaba cubierta por el acrosoma, el cual abarcó los dos tercios anteriores del núcleo y presentó una protuberancia unilateral en el borde superior, el cuerpo apical (Fig. 1c). La región ecuatorial, compuesta por la parte caudal del acrosoma y las membranas plasmáticas, conformó un anillo que demarcó el límite entre el acrosoma y la porción post-acrosomal (Fig. 1b).

El cuello, representado por un segmento corto, se halló comprendido entre la base de la cabeza y la pieza intermedia del flagelo. Se observó el centriolo proximal y las fibras densas laminadas que se ubicaron dentro del espacio cóncavo o fosa de implantación en la base de la cabeza (Fig. 1d). La pieza intermedia correspondió a la porción más gruesa y superior de la cola, situada entre el cuello y el anillo de Jensen ó *annulus*, una estructura electrodensa presente alrededor del conjunto axial de fibras densas en la unión entre la pieza intermedia y la pieza principal (Fig. 2 b).

La pieza intermedia se caracterizó por la presencia de nueve fibras densas externas alrededor del axonema y una vaina helicoidal de mitocondrias conteniendo ambas estructuras. Estas fibras densas terminaron a distintos niveles de la pieza principal. En los cortes transversales de la cola se observó el axonema con el patrón

clásico de nueve pares dobles de microtúbulos (subunidad A con los brazos de dineína y subunidad B) alrededor de un par central (Fig. 2b y 2c). En la pieza principal, la vaina mitocondrial fue reemplazada por una vaina fibrosa compuesta por una columna longitudinal continua dorsal y otra ventral conectadas a través de bandas circunferenciales. Hacia la pieza terminal la vaina fue más delgada y las dos columnas se asociaron con las fibras densas externas 3 y 8 (Fig. 2d).

La pieza terminal fue la porción más corta y delgada de la cola, y estaba constituida solamente por el axonema cubierto por la membrana celular (Fig. 2d).

DISCUSIÓN

La cabeza del espermatozoide del macho cabrío enano de Camerún presentó una forma oval, semejante a la descrita para otros ruminantes y mamíferos (4, 5, 6, 8, 12, 13, 14, 15,

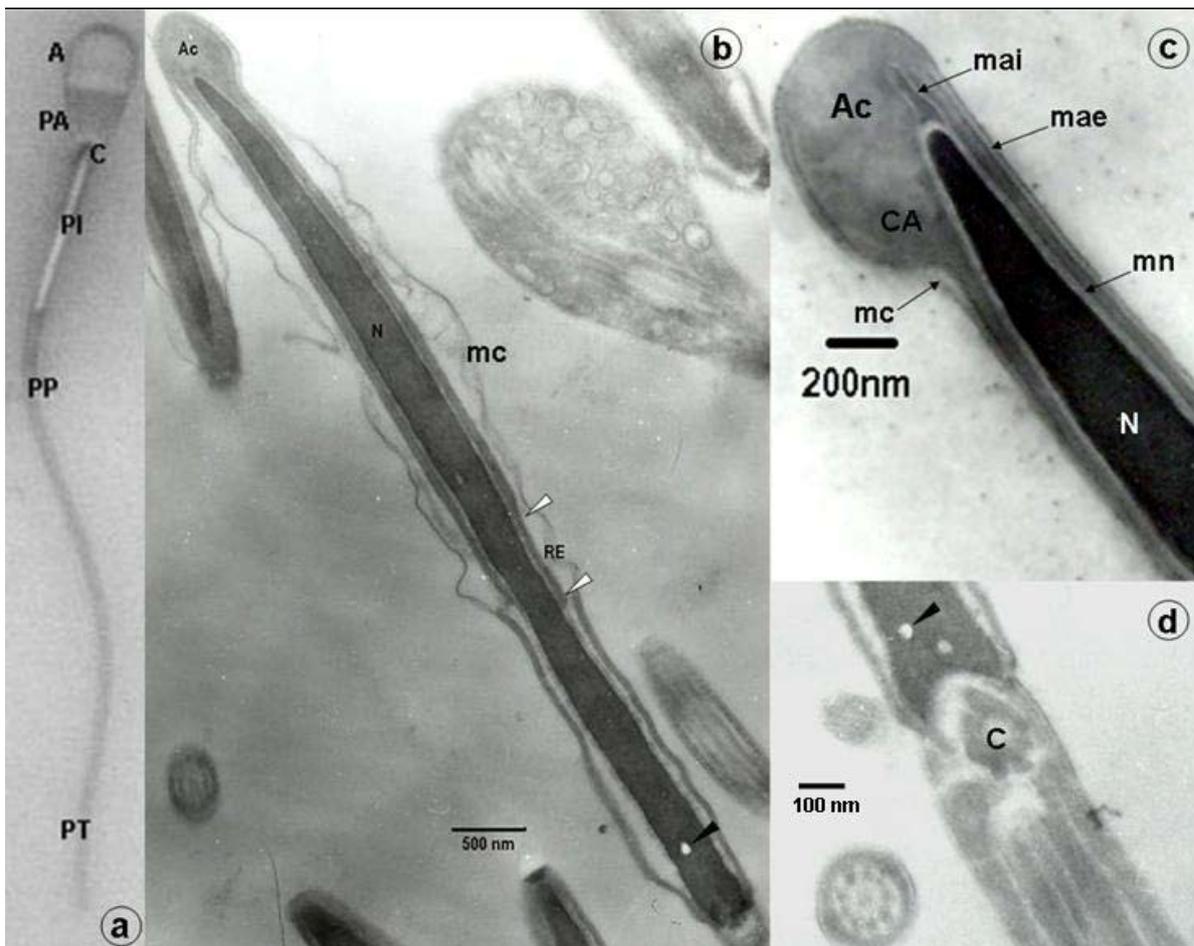


Fig. 1. **a** espermatozoide caprino (40X): Área Acrosomal (A), Área Post Acrosomal (PA), Cuello (C), Pieza Intermedia (PI), Pieza Principal (PP) y Pieza Terminal (PT). **b** corte longitudinal de cabeza: Acrosoma (Ac), Núcleo (N), membrana citoplasmática (mc), Región Ecuatorial (RE) entre cabezas de flechas blancas, vacuolas nucleares (cabezas de flechas negras). **c** detalle de la región acrosomal: Acrosoma (Ac), Cuerpo Apical (CA), membrana acrosomal interna (mai), membrana acrosomal externa (mae), membrana nuclear (mn), membrana citoplasmática (mc), Núcleo (N). **d** detalle de cuello: vacuola nuclear (cabeza de flecha), Centriolo (C).

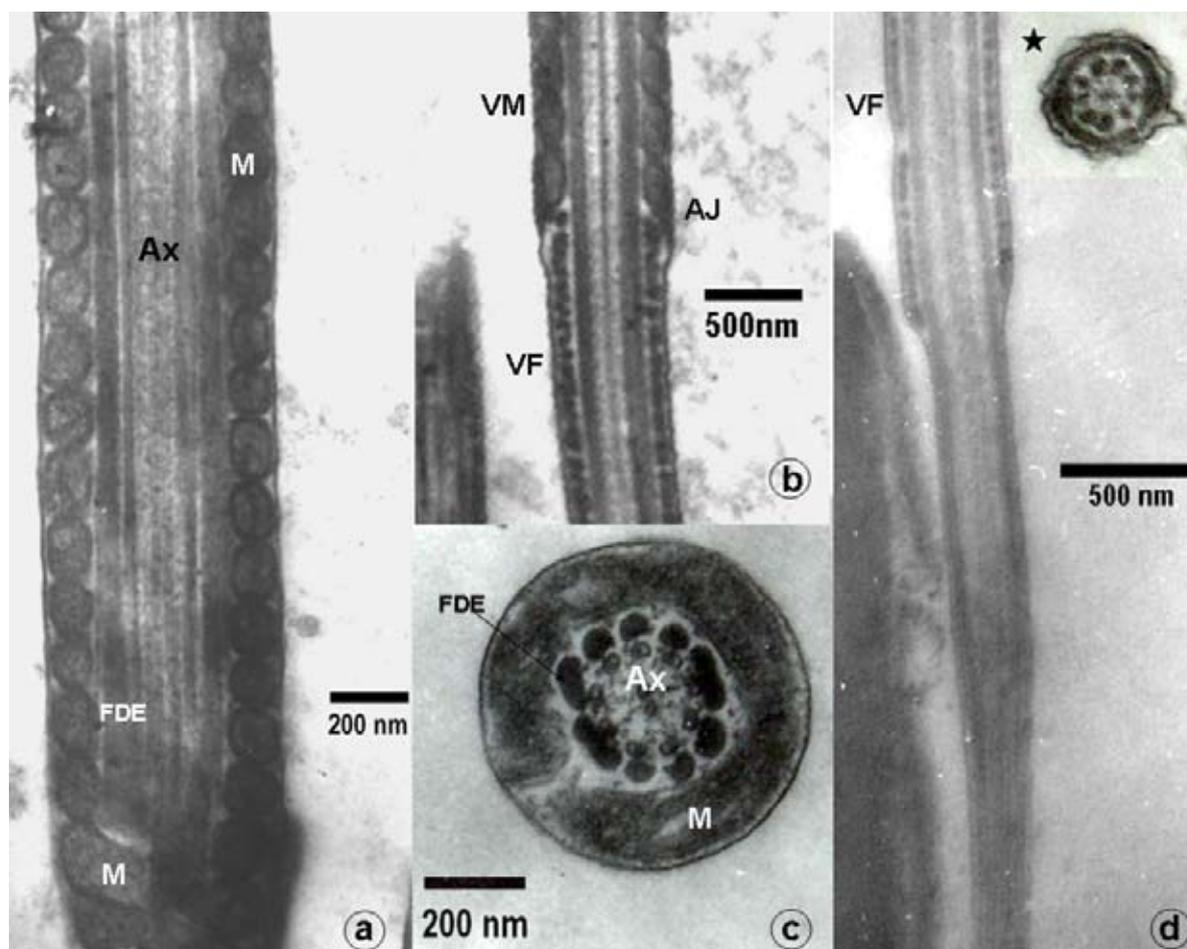


Fig 2. **a** corte longitudinal del flagelo, pieza intermedia: Axonema (Ax), Mitochondrias (M), Fibras Densas Externas (FDE). **b** corte longitudinal de pieza intermedia y pieza principal: Vaina Mitochondrial (VM), Anillo de Jensen (AJ) o *annulus*, Vaina Fibrosa (VF). **c** corte transversal de pieza intermedia: Axonema (Ax), Mitochondria (M), Fibras Densas Externas (FDE). **d** corte longitudinal de pieza principal y pieza terminal: Vaina Fibrosa (VF), corte transversal de pieza principal (estrella): el axonema rodeado por la vaina fibrosa (columnas dorsal y ventral conectadas por bandas circunferenciales que se asocian con las fibras densas externas 3 y 8).

16, 17, 18, 19, 20, 21, 22). El centriolo proximal situado en la base de la cabeza rara vez logró verse en secciones longitudinales. La ultraestructura de la cola, en general, fue similar a los patrones descritos para otras especies (1, 2, 4, 11). El *annulus* se observó como una clara división electrodensa entre la pieza intermedia y la principal donde termina la vaina mitocondrial y comienza la vaina fibrosa. Si bien se describe una invaginación de la membrana para formar un surco profundo de característica retroanular en diferentes especies, entre ellas el carnero (3 y 23), no se pudo reconocer la misma en los cortes realizados en este trabajo.

La descripción de la ultraestructura de los espermatozoides del macho cabrío de Camerún (*Capra hircus*) responde al patrón general descrito para los espermatozoides de los rumiantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Baccetti B, Bergamini M, Bernieri G. Submicroscopic mathematical evaluation of spermatozoa in assisted reproduction. 4. The bovine fertilization (Notulae seminologicae). J Submicr Cytol Path. 1997; 29(4): 563-582.
2. Bitto II, Egbunike GN. Seasonal variations in sperm production, gonadal and extragonadal sperm reserves in pubertal West African dwarf bucks in their native tropical environment. Livestock Research for Rural Development. 2006. Volume 18, Article 134.
3. Oyeyemi, MO, Olukole, SG, Esan O. Sperm Morphological Studies of the West African Dwarf Buck Treated with Pumpkin Plant (*Cucurbita pepo*). Int. J. Morphol. 2008, 26(1):121-126.
4. Fawcett DW. A Comparative View of Sperm Ultrastructure 1. Biology of Reproduction Supplement 1970; 2: 90-127.

5. Fawcett DW. The mammalian spermatozoon. *Develop Biol.* 1975; 44: 394-436.
6. Hancock JL. Ultrastructure of mammalian spermatozoa. *Adv Rep. Phys.* 1966; 1: 25.
7. Juhász J, Nagy P, Kulcsar M, Huszenicza GY. Methods for semen and endocrinological evaluation of the stallion: a review. *Acta Vet Brno.* 2000; 69: 247-259.
8. Aquino Luque MC, Nair Bao S. Structural and ultrastructural characterization of zebu (*Bos indicus*) spermatozoa. *Biocell* 2006, 30(1): 33-38.
9. Pesch S, Bergmann M. Structure of mammalian spermatozoa in respect to viability, fertility and cryopreservation. *Micron.* 2006, 37 (7): 597-612.
10. Olson GE, Winfrey VP. A comparison of mammalian sperm membranes. *A Comparative Overview of Mammalian Fertilization*, 3. B.S. Dunbar and M.G. O'Rand (Editors), Plenum Press (New York). 1991. 51-62.
11. Jurado SB, Sarmiento P, Stornelli MA. La Microscopía Electrónica como herramienta en la evaluación de semen canino. *Rev. Analecta Veterinaria.* 2008. 28 (1): 7-14.
12. Bonadonna J. Enquires on the sperms of domesticated animals using the electron microscope. First report: on the microstructure of "*bos taurus sperms*". *Proc Eighth Pacific Sci Cong.* 1958; 4: 455-490.
13. Rahlman DF. Electron microscopic study of mature bovine spermatozoa. *J Dairy Sci.* 1961; 44: 915-920.
14. Blom E. The galea capitis and apical body in bull sperm and the fertilization process. *Intern J Fert.* 1963; 8: 447-452.
15. Saacke RG, Almquist JO. Ultrastructure of bovine spermatozoa. I. The head of normal, ejaculated sperm. *Am. J Anat.* 1964; 115: 143-161.
16. Blom E, Birch-Andersen A. The ultrastructure of the bull sperm. II. The sperm head. *Nord Veterinaermed.* 1965; 17: 193-212.
17. Wooding FBP, O'Donnell JM. Detailed ultrastructural study of head membranes of ejaculated bovine sperm. *J Ultra Mol Struc R.* 1971; 35(1-2): 71-85.
18. Bustos-Obregon E, Fléchon JE. Comparative scanning electron microscope study of boar, bull and ram spermatozoa. *Cell Tiss Res.* 1975; 161: 329-341.
19. Oko RJ, Costerton JW, Coulter GH. An ultrastructural study of the head region of bovine spermatozoa. *Can J Zool.* 1976; 54: 1326-1340.
20. Saacke RG, Almquist JO. Ultrastructure of bovine spermatozoa. II. The neck and tail of normal, ejaculated sperm. *Am J Anat.* 1964; 115: 163-182.
21. Bradfield JRG. Fiber patterns in animal flagella and cilia. *Symp Soc Exptl Biol.* 1955; 9: 306-334.
22. Telkka A, Fawcett DW, Cristensen AK. Further observations on the structure of the mammalian sperm tail. *Anat Rec.* 1961; 141: 231-246.
23. Fawcett DW. Structure of the mammalian spermatozoon. *Intern Rev Cytol.* 1958; 7: 195-243.