

## FORMACIÓ DE L'ESPERMATÒFOR A LA CABRA DE MAR *Maja brachydactyla* (DECAPODA, BRACHYURA)

Carles G. Simeó,<sup>1\*</sup> Guiomar Rotllant,<sup>1</sup> Enric Ribes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IRTA

Sant Carles de la Ràpita, Ctra. Poble Nou, km 5,5. 43540 Sant Carles de la Ràpita. [carlos.garcia@irta.es](mailto:carlos.garcia@irta.es), [guiomar.rotllant@irta.es](mailto:guiomar.rotllant@irta.es).

<sup>2</sup> Departament de Biologia Cel·lular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

Av. Diagonal, 645. 08028 Barcelona. [eribes@ub.edu](mailto:eribes@ub.edu).

---

### Resum

La formació de l'espermatòfor de *Maja brachydactyla* i el paper del conducte deferent s'han descrit mitjançant tècniques de microscòpia òptica i electrònica. L'epiteli del conducte deferent anterior produeix les secrecions que formen la paret de l'espermatòfor. El conducte deferent mitjà conté els espermatòfors envoltats de fluids seminals. El conducte deferent posterior continua la producció i magatzem de secrecions seminals. L'espermatòfor *M. brachydactyla* és el·lipsoïdal i està constituït per una fina paret acel·lular que envolta els espermatozoides que es troben embeguts en una matriu. El procés de formació, estructura i funció de l'espermatòfor és equivalent al d'altres espècies de braquiürs prèviament descrites.

**Paraules clau** espermatòfor, aparell reproductor masculí, reproducció, morfologia, Decapoda.

### Abstract

Spermatophore formation in *Maja brachydactyla* and the role of the vas deferens have been described by light and electron microscopy. The epithelium from anterior vas deferens secretes the substances that will form the wall of the spermatophore. The median vas deferens contains spermatophores surrounded by seminal fluid. The distal vas deferens secretes and stores seminal secretions. Spermatophores of *M. brachydactyla* is ellipsoidal and consists of a thin acellular wall which surrounds the sperm mass embedded in a matrix. The process of spermatophore formation, structure and function are similar to previous studies in other Brachyuran species.

**Key words** spermatophore, male reproductive system, reproduction, morphology, Decapoda.

---

## INTRODUCCIÓ

La reproducció en els crustacis decàpodes és un procés complex, en el qual, generalment, els mascles transfereixen espermatozoides aflagellats empaquetats en càpsules anomenades espermatòfors (Subramoniam, 1995; Moriyasu *et al.*, 2002). Els espermatòfors estan formats pels espermatozoides embeguts en una matriu i una paret d'una o diverses capes de secrecions acel·lulars, produïdes en el conducte deferent. Els espermatòfors tenen la funció de protegir els espermatozoides durant la transferència, i s'emmagatzemen al receptacle seminal o espermateca de la femella (Adiyodi *et al.*, 1988). Els braquiürs presenten un espermatòfor petit i el·lipsoide, amb una paret acel·lular fina. Els espermatòfors es formen per les secrecions de la part anterior del conducte deferent, mentre que les porcions mitjanes i distals em-

magatzemen els espermatòfors i produeixen les secrecions seminals que acompanyen els espermatòfors (Krol *et al.*, 1992).

La cabra de mar, *Maja brachydactyla*, és una espècie de l'Atlàntic NE d'alt interès comercial, sotmesa a una intensa explotació pesquera, i amb un important potencial en l'aqüicultura. Els estudis recents han demostrat que les femelles de *M. brachydactyla* poden emmagatzemar els espermatòfors al receptacle seminal després de cada còpula, cosa que permet una posterior fertilització sense necessitat de copular (González-Gurriarán *et al.*, 1998; Rotllant *et al.*, en premsa).

L'objectiu d'aquest estudi és la descripció de la formació i estructura de l'espermatòfor de *M. brachydactyla* mitjançant tècniques histològiques, i se centra principalment en la morfologia del conducte deferent anterior i mitjà.

## MATERIAL I MÈTODES

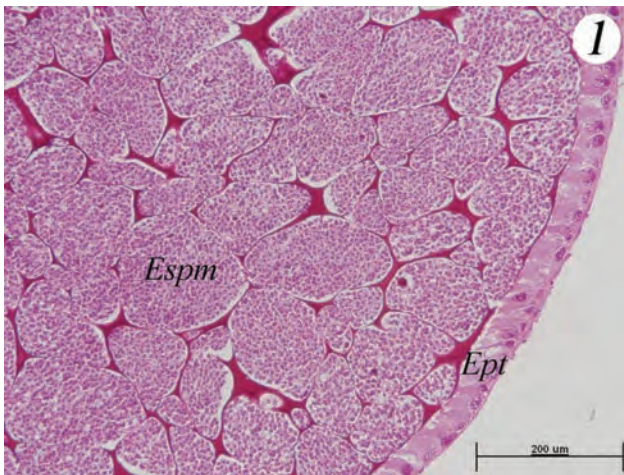
Els mascles de *Maja brachydactyla* foren capturats a la Ria de A Corunya (Galícia) amb tresmall. La dissecció es realitzà en animals anestesiats en fred i s'extragué l'aparell reproductor (testicles i conductes deferents) per a ser fixats immediatament. Per microscòpia òptica, els conductes deferents se seccionaren en les diferents regions, es fixaren en Bouin i es deshidrataren en un gradient creixent d'alcohol. Els teixits s'incloueren en parafina, els blocs es tallaren en un micròtom Leica RM 2155® en seccions de 3 µm que es tenyiren amb hematoxilina i eosina. Les observacions es realitzaren amb un microscopi Olympus BX61®. Per microscòpia electrònica, els teixits es fixaren en 2 % de paraformaldehid i 2,5 %

de glutaraldehid en tampó cacodilat al 0,1 M i, seguidament, amb tetraòxid d'osmi a l'1 % en tampó cacodilat. Les mostres per a microscòpia electrònica de transmissió es deshidrataren amb acetona i s'incloueren en resina Spurr. Les seccions ultrafines es realitzaren en un ultramicròtom Leica UCT®, es contrastaren en acetat d'uranil i citrat de plom i s'observaren en un microscopi electrònic Jeol EM-1010® a 80 kV. Les mostres per a microscòpia electrònica de rastreig, un colp deshidratades en alcohol, es dessecaren amb el punt crític amb CO<sub>2</sub> i es recobriren amb or i palladi. Les observacions es realitzaren en un microscopi Hitachi S-2300® a 10-15 kV.

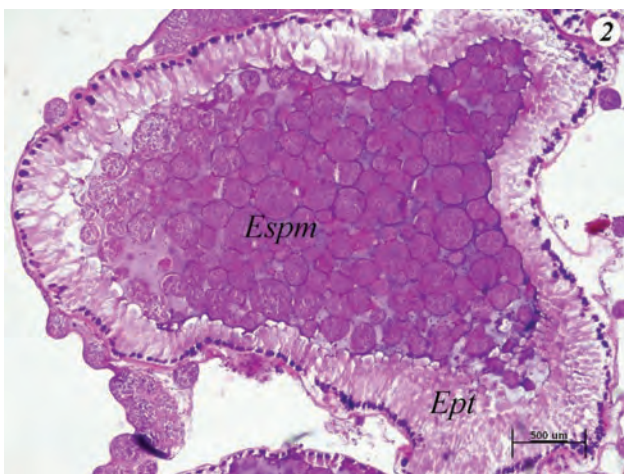
## RESULTATS

### Morfologia i histologia del conducte deferent

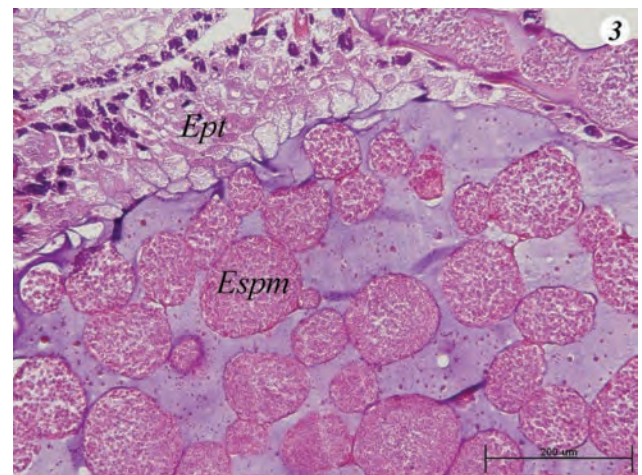
El conducte deferent de la cabra de mar, *Maja*



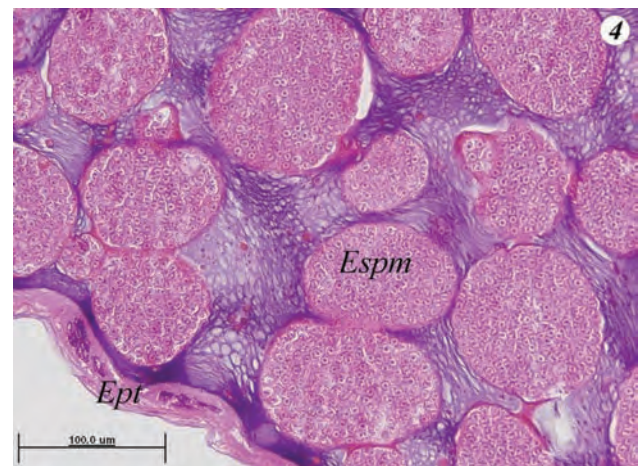
**Figura 1** Inici de la formació dels espermatòfors. La primera secreció (en vermell amb hematoxilina i eosina) de l'epiteli del CDA divideix la massa d'espermatòfors en agregats. *Ept*: epiteli, *Espm*: espermatòfors en formació. H-E (hematoxilina- eosina). MO (microscopi òptic).



**Figura 2** Final de la formació dels espermatòfors. La segona secreció (en blau amb hematoxilina i eosina) del CDA envolta els agregats d'espermatòfors per formar els espermatòfors. *Ept*: epiteli, *Espm*: espermatòfors. H-E. MO.



**Figura 3** Espermatòfors envoltats de fluids seminals al CDM. *Ept*: epiteli, *Espm*: espermatòfors. H-E. MO.



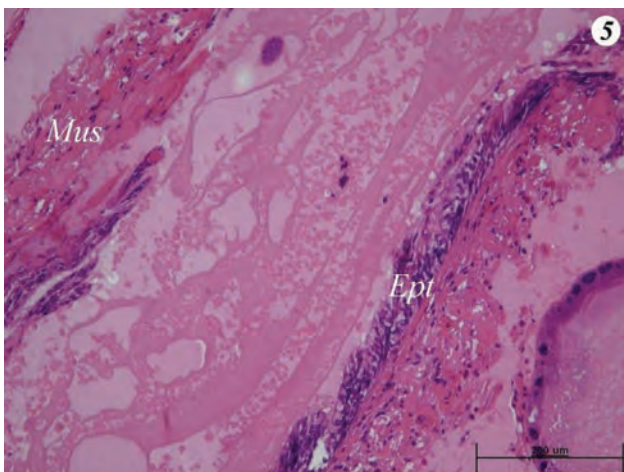
**Figura 4** Espermatòfors emmagatzemats al CDM. Les substàncies secretades al llarg del CDM s'acumulen i formen vesícules que es disposen entre els espermatòfors. *Ept*: epiteli, *Espm*: espermatòfors. H-E. MO.



*brachydactyla*, és un òrgan parell que es localitza a la part posterior del cefalotòrax, sobre l'hepatopàncrees, que es pot dividir en tres regions: el conducte deferent anterior (CDA), mitjà (CDM) i posterior (CDP). El CDA és la continuació del testicle des de l'extrem anterior del cor, i transcorre sota aquest. És un tub recargolat amb dues parts: *anterior*, pròxima al testicle, amb la superfície del conducte llisa, i *posterior*, amb petits diverticles aïllats lleugerament ramificats que surten del conducte principal. El CDA presenta un epitelí prismàtic secretor, amb nuclis en posició basal (figures 1, 2 i 8). En la part anterior es troben espermatozoides lliures, mentre que en la part posterior es troben espermatòfors envoltats de fluid seminal. El CDM és un tub estirat sota el cor amb nombrosos diverticles sobre la meitat dorsal, de major altura que al CDA, mentre que la meitat ventral és llisa. L'epitelí del CDM és prismàtic i secretor. Als diverticles s'observen feixos de musculatura que envolten la paret en espiral. El CDM conté espermatòfors envoltats de fluid seminal (figura 3). El CDP ocupa l'espai entre l'extrem posterior del cor i del cos. Presenta una glàndula d'aspecte massiu formada per molts diverticles altament ramificats. L'epitelí de les glàndules és variable, amb cèl·lules cuboïdals i planes, envoltades de fibres musculars. La llum de les glàndules conté secrecions seminals. El CDP presenta un epitelí pseudoestratificat, que descansa sobre una làmina basal. Una capa externa molt desenvolupada de musculatura envolta l'epitelí (figura 5). La llum del conducte està anastomosada, però ocasionalment es poden trobar espermatòfors amb secrecions seminals.

### Formació de l'espermatòfor

Els espermatozoides entren en el CDA formant una massa homogènia. La part anterior del CDA presenta dos tipus de secrecions. La primera secreció es te-

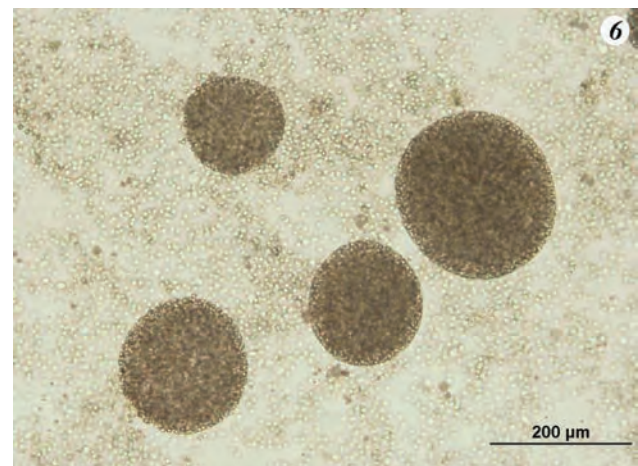


**Figura 5** CDP. *Ept*: epitelí, *Mus*: musculatura H-E. MO.

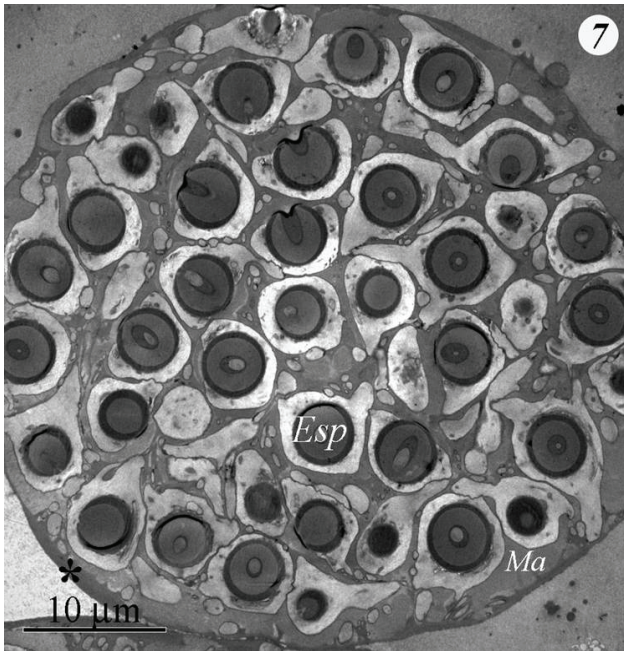
nyeix de vermell i es produeix a la zona més pròxima al testicle (figura 1). Aquesta secreció s'intercala entre la massa d'espermatozoides separant-los en grups de formes diverses, que esdevindran els espermatòfors. A mesura que augmenta la secreció, les diferents agregacions s'aïllen i es compacten. La segona secreció de la part anterior del CDA es tenyeix de color blau (figura 2). Aquesta substància envolta els espermatòfors desplaçant la secreció vermella, que s'intercala entre els espermatozoides i forma una capa que envolta tot el grup. La compactació dels espermatòfors va augmentant al llarg del conducte. La zona posterior conté espermatòfors envoltats de la secreció blava. Els espermatòfors entren en el CDM, on són emmagatzemats en els diverticles (figura 3). La zona anterior del CDM presenta unes petites gotes transparents que s'allotgen a la matriu en la qual es troben els espermatòfors. Al llarg del CDM, les gotes s'agrupen i formen vesícules de mida i forma variable embegudes en la secreció blava d'aspecte reticulat o fibrós (figura 4).

### Estructura de l'espermatòfor

L'espermatòfor de *M. brachydactyla* és el·lipsoïdal i està format per una massa d'espermatozoides embe-guts en una matriu i una paret acel·lular, amb una mida d'eix major de 130 µm i 105 µm d'eix menor (figures 6 i 7). Els espermatozoides es troben embe-guts en una matriu formada per dues substàncies. La primera substància envolta els espermatozoides, de forma que cada espermatozoide es troba envoltat per la seva pròpia substància, separada de la resta per una pel·lícula. La segona substància, més densa electrònicament que la primera, ocupa els espais entre els espermatozoides i forma la paret de l'espermatòfor. Una tercera substància, menys densa electròni-

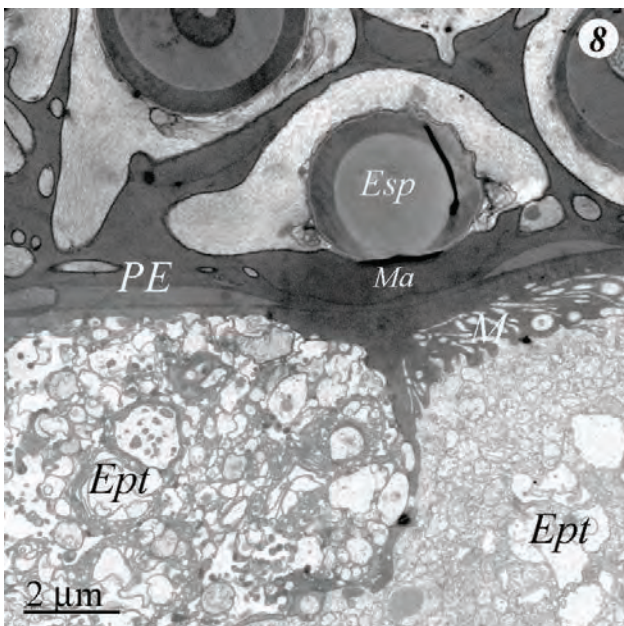


**Figura 6** Preparació en fresc d'espermatòfors del CDA. Els espermatòfors presenten certa variabilitat tant en forma, entre esfèrica i el·lipsoïdal, com en mida, amb un eix major que varia entre els 50 i 200 µm. MO.



**Figura 7** Espermatòfor. *Esp*: espermatzoide, *Ma*: matriu, \*: paret de l'espermatòfor. MET (microscopi electrònic de transmissió).

cament, s'intercala de forma discontinua entre la paret de l'espermatòfor (figura 8). La paret és fina, amb un gruix variable. La superfície és llisa, sense cap ornamentació, encara que els espermatozoides s'intueixen a l'interior de l'espermatòfor (figura 9).

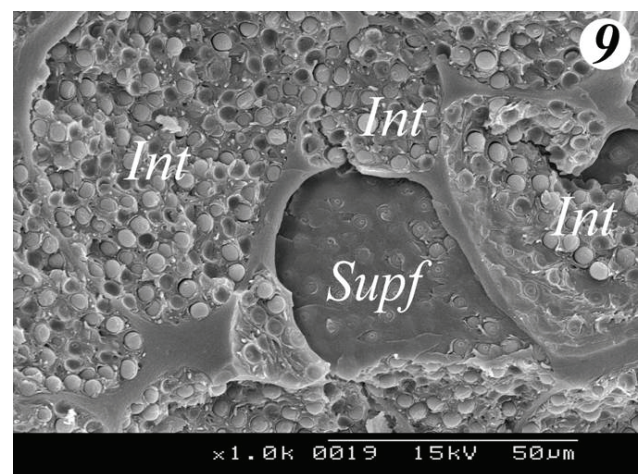


**Figura 8** Ultraestructura de l'espermatòfor. Els espermatozoides es troben embeguts per una matriu i envoltats per una fina paret acel·lular. *Ept*: cèl·lula epitelial del CDA, *Esp*: espermatzoide envoltat per una matriu (*Ma*), *M*: microvilli, *PE*: paret de l'espermatòfor. MET.

## DISCUSSIÓ

El CDA de *Maja brachydactyla* és el responsable de la formació dels espermatòfors. Una primera secreció divideix la massa espermàtica en petites unitats que esdevindran els espermatòfors, mentre que la segona secreció separa cada grup d'espermatozoides per formar l'espermatòfor. El CDM emmagatzema els espermatòfors formats fins el moment de la còpula. El CDP és l'encarregat de la producció i emmagatzematge del fluid seminal. La formació de l'espermatòfor en altres espècies, com *Carcinus maenas* (Spalding, 1942), *Callinectes sapidus* (Cronin, 1947), *Portunus sanguinolentus* (Ryan, 1967), *Libinia emarginata* i *Libinia dubia* (Hinsch *et al.*, 1974) es produeix en el CDA. El CDM presenta més diversitat de funcions, com magatzem d'espermatòfors, absorció, producció i magatzem de fluid seminal.

L'estructura de l'espermatòfor de *M. brachydactyla* es correspon a la d'un braquiür (Dudenhausen *et al.*, 1983). Es tracta d'un espermatòfor el·lipsoidal de petita mida, amb els espermatozoides embeguts en una matriu i una fina paret acel·lular. La substància que forma la matriu, es troba tant entre els espermatozoides com entre aquests i la paret. Aquesta disposició es dona també en *L. emarginata* i *L. dubia* (Hinsch, 1986) i *Chionoecetes opilio* (Chiba, 1992), contràriament a *Portunus pelagicus* (El-Sherief, 1991) i *Ovalipes ocellatus* (Hinsch, 1986), en què la matriu es troba només entre la paret i els espermatozoides. La paret de *M. brachydactyla* sembla estar formada per una sola capa. La paret de l'espermatòfor presenta gran variabilitat. En *O. ocellatus*, *L. emarginata* i *L. dubia* (Hinsch, 1986), la paret



**Figura 9** Espermatòfors al CDA. A l'interior dels espermatòfors es poden trobar els espermatozoides amb forma globular envoltats d'una matriu. Els espermatòfors presenten una fina paret acel·lular i la superfície llisa que permet reconèixer els espermatozoides des de l'exterior. *Int*: interior dels espermatòfors, *Supf*: superfície exterior dels espermatòfors. MER (microscopi electrònic de rastreig).



està formada per una sola capa. Per contra, els espermatòfors de *C. maenas* (Spalding, 1942), *C. sapidus* (Cronin, 1947), *Scylla serrata* (Uma et al., 1979), *Chaceon fenneri* (Hinsch, 1988), *Ranina ranina* (Minagawa et al., 1994), *P. pelagicus* (El-Sherief, 1991) o *C. opilio* (Chiba, 1992) presenten diverses capes de diferent naturalesa química. La superfície de la paret de *M. brachydactyla* és llisa, com en *C. maenas* (Spalding, 1942), *O. ocellatus* (Hinsch, 1986), *L. emarginata* i *L. dubia* (Hinsch et al., 1974), *C. fenneri* (Hinsch, 1988) i *Goniopsis cruentata* (Martins Garcia et al., 2006). La paret de *P. pelagicus* (El-Sherief, 1991) és arrugada, amb convolucions en la superfície. *C. opilio* (Moriyasu et al., 1998) presenta els dos tipus d'espermatòfor en funció de la maduresa sexual del mascle.

Els espermatòfors, juntament amb les secrecions seminals, són transferits als receptacles seminals de la femella de *M. brachydactyla*, on s'emmagatzemen (González-Gurriarán et al., 1998). Tanmateix l'estudi del contingut de l'espermateca, revela que conté tant espermatòfors com espermatozoides lliures (Rotllant et al., en premsa). Aquest fet suggereix que la funció de l'espermatòfor és l'empaquetament dels espermatozoides per a la transferència de la femella, la qual cosa està d'acord amb la seva estructura.

## AGRAÏMENTS

Al projecte «Cria de *Maja* sp.», de JACUMAR, a la Xarxa de Referència de R+D+I en Aqüicultura i al Departament d'Innovació, Universitats i Empresa de la Generalitat de Catalunya pel finançament.

A Almudena Garcia i Núria Cortadellas, dels Serveis Científicotècnics de la Universitat de Barcelona. Al Personal de Suport de l'IRTA-Sant Carles de la Ràpita.

## BIBLIOGRAFIA

- ADIYODI, K. G.; ANILKUMAR, G. (1988). «Crustacea: Decapoda». A: Adiyodi, K. G.; Adiyodi, R. G. [ed.] *Reproductive biology of invertebrates*. Kerala: John Wiley and Sons, Volume III: Accesory sex glands: 261-318.
- CHIBA, A.; KON, T.; HONMA, Y. (1992). «Ultrastructure of the spermatozoa and spermatophores of the zuwai crab, *Chionoecetes opilio* (Majidae, Brachyura)». *Acta Zool.*, 73(2): 103-108.
- CRONIN, L. E. (1947). «Anatomy and histology of the male reproductive system of *Callinectes sapidus*». *J. Morph.*, 81: 209-240.
- DUDENHAUSEN, E. E.; TALBOT, P. (1983). «An ultrastructural comparison of soft and hardened spermatophores from the crayfish *Pacifastacus leniusculus* Dana». *Can. J. Zool.*, 61: 182-194.
- EL-SHERIEF, S. S. (1991). «Fine structure of the sperm and spermatophores of *Portunus pelagicus* (L.) (Decapoda, Brachyura)». *Crustaceana*, 61: 271-279.
- GONZÁLEZ-GURRIARÁN, E.; FERNÁNDEZ L.; FREIRE, J.; MUIÑO, R. (1998). «Mating and role of seminal receptacles in the reproductive biology of the spider crab *Maja squinado* (Decapoda: Majidae)». *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 220: 269-285.
- HINSCH, G. W. (1986). «A comparison of sperm morphologies, transfer and sperm mass storage between two species of crab, *Ovalipes ocellatus* and *Libinia emarginata*». *Int. J. Invertebr. Repr. Dev.*, 10: 79-87.
- HINSCH, G. W. (1988). «Ultrastructure of the sperm and spermatophores of the golden crab *Geryon fenneri* and a closely related species, the red crab *G. quinque-dens*, from the eastern gulf of Mexico». *J. Crust. Biol.*, 8(3): 340-345.
- HINSCH, G. W.; WALKER, M. H. (1974). «The vas deferens of the spider crabs, *Libinia emarginata*». *J. Morph.*, 143: 1-20.
- KROL, R. M.; HAWKINS, W. E.; OVERSTREET, R. M. (1992). «Reproductive components». A: Wiley-Liss, I. [ed.] *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, 10: Decapod Crustacea: 295-343.
- MARTINS GARCIA, T.; FEITOSA, J. R. (2006). «Testis and vas deferens morphology of the red-clawed mangrove tree crab (*Goniopsis cruentata*) (Latreille, 1803)». *Braz. arch. biol. technol.*, 49(2): 339-345.
- MINAGAWA, M.; CHIU, J.-R.; KUDO, M.; TAKASHIMA, F. (1994). «Male reproductive biology of the red frog crab, *Ranina ranina*, off Hachijojima, Izu Islands, Japan». *Mar. Biol.*, 118: 393-401.
- MORIYASU, M.; BENHALIMA, K. (1998). «Snow crabs, *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius, 1788) (Crustacea: Majidae) have two types of spermatophore: hypotheses on the mechanism of fertilization and population reproductive dynamics in the southern Gulf of St. Lawrence, Canada». *Journal of Natural History*, 32: 1651-1665.
- MORIYASU, M.; BENHALIMA, K.; DUGGAN, D.; LAWTON, P.; ROBICHAUD, D. (2002). «Reproductive biology of the male Jonah crab, *Cancer borealis* Stimpson, 1859 (Decapoda, Cancridae) on the Scotian shelf, Northwestern Atlantic». *Crustaceana*, 75(7): 891-913.
- ROTLLANT, G.; GONZÁLEZ-GURRIARÁN, E.; FERNÁNDEZ, L.; BENHALIMA, K.; RIBES, E. «Ovarian maturation of the multi-spawning spider crab *Maja brachydactyla* (Decapoda: Majidae) with special reference to yolk formation». *Mar. Biol.* [en premsa]
- RYAN, E. P. (1967). Structure and function of the reproductive system of the crab *Portunus sanguinolentus* (Hersbt) (Brachyura: Portunidae) I. The male system. *Proc. Symp. Crust., Mar. Biol. Assoc. India, Ernakulam*.
- SPALDING, J. F. (1942). «The nature and formation of the spermatophore and sperm plug in *Carcinus maenas*». *Quart. Journ. Micr. Sci.*, 83: 399-423.

SUBRAMONIAM, T. (1995). «Light and electron microscopic studies on the seminal secretions and the vas deferens of the penaeoidean shrimp, *Syciona ingentis*». *J. Biosci.*, 20(5): 691-706.

UMA, K.; SUBRAMONIAM, T. (1979). «Histochemical characteristics of spermatophore layers of *Scylla serrata* (Forsk.) (Decapoda: Portunidae)». *Int. J. Invertebr. Repr. Dev.*, 1: 31-40.