

Ultraestructura de les valves i del mantell larvari d'*Anodonta cygnaea*, L.

M. Durfort

Dpt. Morfologia Microscòpica. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona.

Abstract

Ultrastructure of the valves and larval mantle of *Anodonta cygnaea*, L.

Freshwater lamellibranch molluscs in the family Unionidae have a very special larval development (Faussek, 1903; Harms, 1909; Herbers, 1913). The stage which would correspond to the veliger larva, the glochidium, develops in a sort of incubation chamber or marsupium, located between the two branchial lamellae.

The glochidium has two articulated valves and a very simplified internal organization we report results from a study of the valves and the larval mantle using both scanning and transmission electron microscopy. The arrangement of the denticles on the valves may have taxonomic applications. The larval mantle plays a very important trophic and respiratory role since, at this development stage, the glochidium has neither a mouth nor anus and the digestive tube is merely incipient.

Introducció

El desenvolupament larvari dels mol·luscs de la família dels Unionidae ja va despertar l'interès dels embriólegs de començament de segle. Les referències més antigues que hem trobat corresponen a Faussek (1903), a Harms (1909) i a Herbers (1913) que varen observar i descriure un estadi molt interessant i particular en el desenvolupament dels lamel·libranquis d'aigua dolça: el gloquidi (=glochidium)

En el Traité d'Embryologie des Invertébrés de Davidoff (1928) es fa una detallada descripció de la metamorfosi d'aquesta larva tan especial.

El cicle reproductor d'Anodonta ha estat estudiat amb força detall, a la vegada que s'han tingut en compte els factors ecològics que podien incidir-hi (Lefevre i Curtis, 1919; Arey, 1932); Zhadin, 1952; Negus, 1966; Brodniewicz, 1968).

La fase de gloquidi correspondria a la de la larva velígera i es caracteritza per presentar dues valves triangulars, una dorsal i l'altra ventral, articulades. L'estudi de les valves al microscopi electrònic de rastreig ha donat una sèrie de dades que, entre altres, poden tenir un valor sistemàtic. En aquest sentit cal esmentar el treball de Giusti et al. (1975), el de Culliney (1975), així com el de Bradford et al. (1978), que aporten dades força importants.

Aquestes larves es desenvolupen en el marsupi o cambra incubadora, formada per les dues làmines branquials del mol·lusc. A la primavera seran emesos els gloquidis, però donat que encara no poden nadar, cauran al fons i quan trobaran un peix, emetran el filament llarg i viscos que tenen i s'hi enganxaran mitjançant les dents que tenen a les valves. Preferentment s'adhereixen a les brànquies

o a les aletes del peix.

Material i mètodes

La procedència d'Anodonta és del ullals del Delta de l'Ebre. Els gloquidis estudiats s'han obtingut de dues maneres: (1) recollida després de la seva emissió per part de la femella i (2) per dissecció dels exemplars i extracció de les larves de la cambra incubadora, formada per les dues làmines branquials, amb això la fase de desenvolupament larvari estudiat no ha estat exactament la mateixa per a tots els gloquidis. (A): Un grup de gloquidis ha estat sotmès a una digestió de la matèria orgànica, seguint dos tractaments diferents: (a) deixant actuar durant una hora NaOH 1N (en la proporció de dues gotes de NaOH per 9 ml d'aigua destil·lada, segons la tècnica recomanada per Bradford et al. (1978), i (b) deixant els gloquidis durant 30 min en una solució de papaïna hidrosoluble al 1%.

Amb tots dos procediments hem eliminat la matèria orgànica i seguidament s'ha procedit a osmificar les valves i deshidratar-les, passant-les per una sèrie ascendent d'acetona, fins arribar a l'absolut.

(B): L'altre grup de gloquidis ha estat directament fixat amb glutaraldehid-paraformaldehid al 3,5% tamponat amb Sørensen, a pH 7,3 i després postfixades amb OsO_4 al 2% igualment tamponat i a 4°C. Després d'una acurada deshidratació per la sèrie ascendent d'alcohols o d'acetona, i amb un temps de permanència de dues hores en cada pas, hem subdividit les mostres. Un grup ha estat processat per al seu estudi al microscopi de rastreig i l'altre per a la seva observació al microscopi electrònic de transmissió.

Les mostres destinades al microscopi de transmissió han estat incloses preferentment amb Spurr (1969), molt adequat per la seva baixa viscositat. S'han obtingut, amb molta dificultat, talls semifins i ultrafins, amb navalla de vidre, mentre que amb la ganiveta de diamant l'operació ha estat un èxit. Les seccions ultrafines s'han contrastat amb acetat d'uranil i amb citrat de plom (Reynolds, 1963).

Els gloquidis per estudiar al microscopi electrònic de rastreig han estat sotmesos a l'acció de l'acetat d'amil i tot seguit a un recobriment d'una capa d'or de 300 a 500 Å de gruix, obtinguda amb un diode Sputtering, Polaron mod.E 500. Amb un aparell Polaron (mod.E 2.000) els hem sotmès a la tècnica del punt crític, fent servir CO_2 (soluble amb el líquid de transferència emprat, es a dir, amb l'acetat d'amil).

Les mostres observades amb transmissió ho han estat amb un Philips 200 i les de rastreig amb un Stereoscan Cambridge, ambdós aparells del Servei de

Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

Pel tipus d'estudi que portem a terme, la informació donada pel material processat per la via (B) és molt més enriquidora.

Observacions

La closca dels gloquidis és tringular (Fot.1) i formada per dues valves que tenen a la seva part anterior una potent dent (d'interès sistemàtic) tota ella carregada de denticles que es disposen en diverses fileres (Fot.2 i 3), de la cara ventral surt un filament extremadament llarg i viscos, que pot considerar-se com un bisso embrionari (Fot.1 i 2).

La microscòpia electrònica de rastreig ha permès comprovar que les valves estan totalment atravesades per sèries de microvil·lis, formant rengleres (Fot.4). Aquest fet, és altament interessant, ja que en aquest estadi larvari l'aparell digestiu del gloquidi no és funcional i, per tant, aquestes expansions del mantell tenen caràcter d'absorció.

trobem una forta similitud entre la cara apical de les cèl·lules del mantell i les cobertes oocitàries, principalment amb la coberta primària i amb la secundària.

Efectivament, l'oolemma emet nombrosos microvil·lis al voltant de tota la càl·lula germinal femenina, de 2 a 3 μm de llargada i de distribució molt periòdica; la membrana vitel·lina és molt desenvolupada i recorda, pel seu gruix i la seva textura, la matriu extracel·lular del gloquidi (Fot.5 i 6).

Una coberta d'elevada densitat als electrons va depositant-se progressivament sobre la membrana vitel·lina, fins assolir el conjunt un aspecte molt dens que conserva uns replecs que incrementen la superfície d'absorció del oòcit (Fot.7 i 8).

Aquest aspecte coincideix amb la formació i distribució dels grànuls corticals, en aquest cas d'origen golgià. És remarcable, però, que una vegada ben constituïts els gran corticals, trobem encara uns magnífics dictiosomes, formats per 6 a 10 sàculs, junt amb mitocondris allargassats i pobres en crestes.

Les cèl·lules d'origen ectodèrmic que formen el mantell tenen un citoplasma extremadament dens, la qual cosa dificulta molt l'observació dels orgànuls citoplasmàtics. Contactes del tipus de les unions septades, profunds i sinuosos, són localitzats a les cares laterals molt properes al polus apical (Fot.10).

La membrana apical emet uns esvels microvil·lis d'unes 10 μm de llargada per 0,1 μm de diàmetre, en ocasions bifurcats (Fot.10), que queden immersos en una matriu extracel·lular molt desenvolupada de 10 a 12 de gruix. El nucli

Larva glochidium d'Anodonta, presentant les valves cobertes. D'après
HARRIS.

El mantell es compon d'un feix de grans cèl·lules verticals. Al nucli anterior hi ha un parell de papilles sensorials, el filament viscos i el filament rígid.

el·líptica, amb cromatina molt densa, destaca poc, a causa de la gran electro-densitat del citoplasma.

Crida l'atenció la presència de moltes inclusions lipídiques encerclades de nombroses partícules de glicògen, molt visibles amb les tècniques de contrast rutinàries.

El condrioma i el reticle endoplasmàtic rugós no presenten cap particularitat especial i llur desenvolupament és normal.

Resultats i conclusions

La zona cortical dels oòcits d'Anodonta cygnaea presenta una gran similitut amb les característiques ultraestructurals trobades en els oòcits de Mytilus edulis (Durfort, 1973). Es una típica estructura per augmentar la superfície d'absorció. Igualment com en la gonada femenina del musclo, la d'Anodonta no té cèl·lules fol·liculars properes als oòcits, per la qual cosa la incorporació de material exògen es fa mitjançant una molt desenvolupada matriu extracèl·lular i amb un sistema de microvil·lis molt regularment disposat.

Hem trobat una gran similitud entre les cobertes dels oòcits d'Anodonta i l'ultraestructura del mantell larvari (Fot. 5, 6, 7, 8 i 10).

El caràcter quasi parasitari assolit pels gloquidis en la cambra incubadora o marsupi (Faussek, 1903) s'evidencia pel fet que el mantell sobresurt de la closca mitjançant l'emissió de nombrosos microvil·lis immersos en una matriu extracèl·lular molt desenvolupada. D'aquesta manera es forma un sistema que permet la màxima absorció de nutrient, a la vegada que fa un paper important en la respiració en aquest estadi larvari estudiat en que les brànquies encara no son funcionals, com tampoc és funcional el tub digestiu (Arey, 1932).

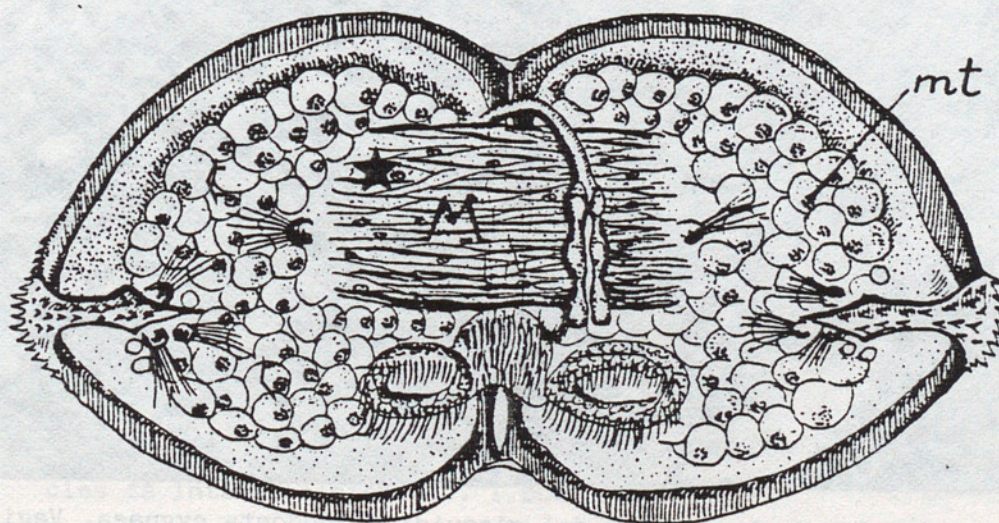
L'aspecte ultraestructural adoptat per la membrana apical de les cèl·lules epitelials del mantell recorda molt la disposició que presenten els microvil·lis de les cèl·lules del epiteli branquial d'Uca mordax (Finol et al. 1983), disposició òptima per incrementar la superfície d'absorció; i és semblant també al gran desenvolupament que tenen els microvil·lis dels oòcits del llenguado, entre altres espècies de peixos (Stehr, 1928 i 1983), per assolir un elevat nivell a absorció.

Bibliografia

AREY, L.B. (1932). The nutrition of glochidia during the metamorphosis: a microscopical study of the sources and manner of utilization of nutritive substances. J. Morph. 53, 201-221.

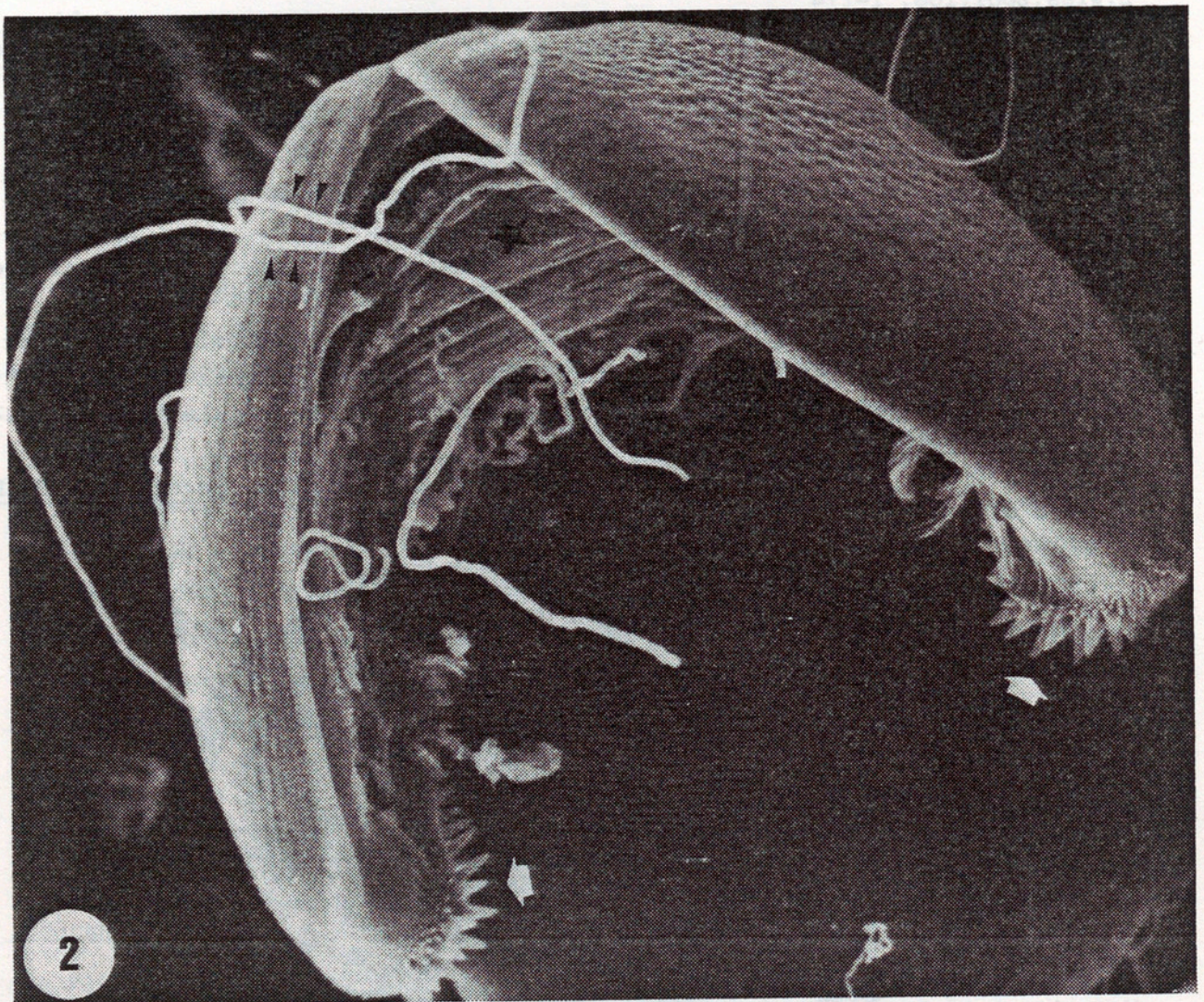
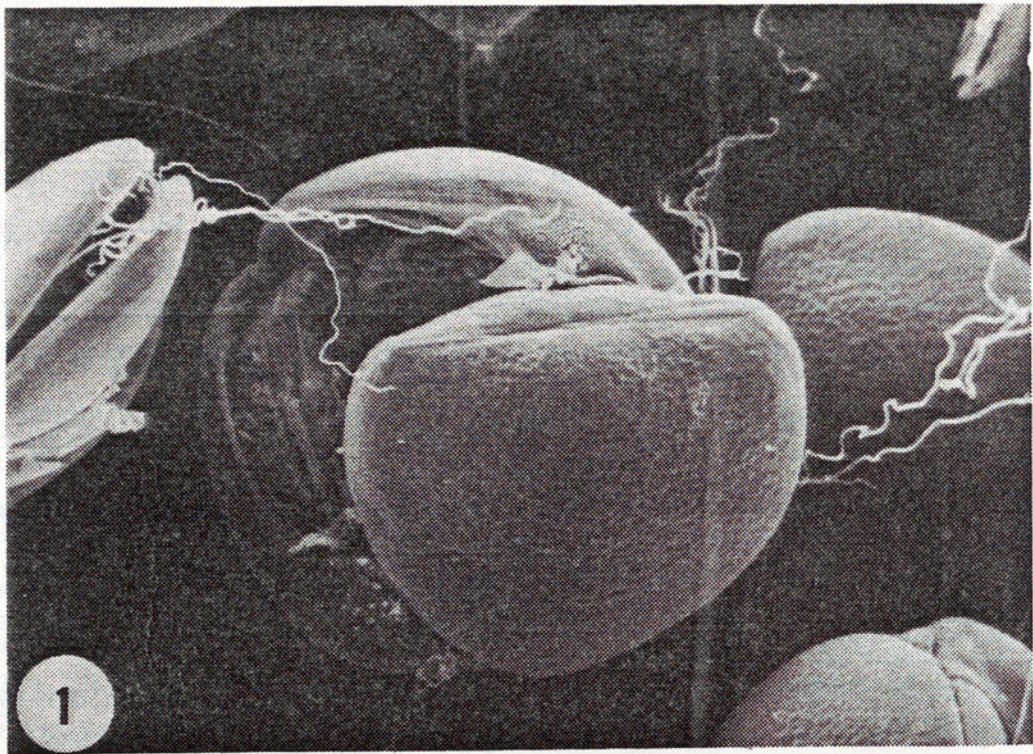
BRADFORD, C., TUMER, R.D. (1978). New techniques for preparing shells of bivalve larvae for examination with the scanning electron microscope. Bull. American Malacological Union for 1978, 17-24.

- BRODNIEWICZ, I. (1968). On glochidia of the genera Unio and Anodonta from the quaternary fresh water sediments of Poland. Acta paleont.pol. 13 (4), 619-630
- CULLINEY, J.L. (1975). Comparative larval development of the shipworms Bankia gouldi and Teredo navalis. Marine Biology. 29, 245-251
- DAVIDOFF, C. 1928. Traité d'Embryologie comparée des Invertébrés. Masson, Paris
- DURFORT, M. 1973. Ultraestructura de la gónada femenina de algunos moluscos. Tesis doct. Univ. Barcelona.
- FAUSSEK, V. (1903). Parasitismus der Anodonta larven. Mem. Acad. Imp. Sci. St. Peterburg (8). XIII (6).
- FINOL, H.J., CROHAM, P.C. (1983). Ultrastructure of the branchial epithelium of an amphibious brackishwater crab. Tissue and Cell, 15 (1), 63-75
- GIUSTI, F., CASTAGNOLO, L., MORETTI, L., RENZONI, A. (1975). The reproductive cycle and the glochidium of Anodonta cygnaea, L. from Lago Transimeno (Central, Italy) Monitore Zool. Ital. 9, 99-118
- HARMS, W. (1909). Postembryonale Entwicklungsgeschichte der Unioniden. Zool. Jb. (Anat), 28, 325-386
- HERBERS, K. (1913). Entwicklungsgeschichte von Anodonta cellensis, Schrot. Z. wiss. Zool. 108, 1-174
- LEFEVRE, G., CURTIS, W.C. (1910). Studies of the reproduction and artificial propagation of fresh-water mussels. Bull. Bur. Fish. Was., 30, 105-201
- NEGUS, C.L. (1966). A quantitative study of growth and production of Unionid mussels in the river Thames at Reading. J. Anim. Eco., 35 (3), 513-532.
- REYNOLDS, E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17, 208-212.
- STEHR, C.M. (1982). The development of the hexagonally structured egg envelope of the C.O. Sole, (Pleuronichtys coenosus). These Univ. Washington.
- STEHR, C.M., HAWKES, J.W. (1983). The development of the hexagonally structured egg envelope of the C.O. Sole (Pleuronichtys coenosus). J. Morph. 178, 167-284.
- SPURR, A.R. (1969). A low viscosity resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrast. Res. 26, 31-43.
- ZHADIN, V. (1952). Molljuski presnych i solonovatykh vod SSSR. Opred. Faune SSSR. 46, 1-376.



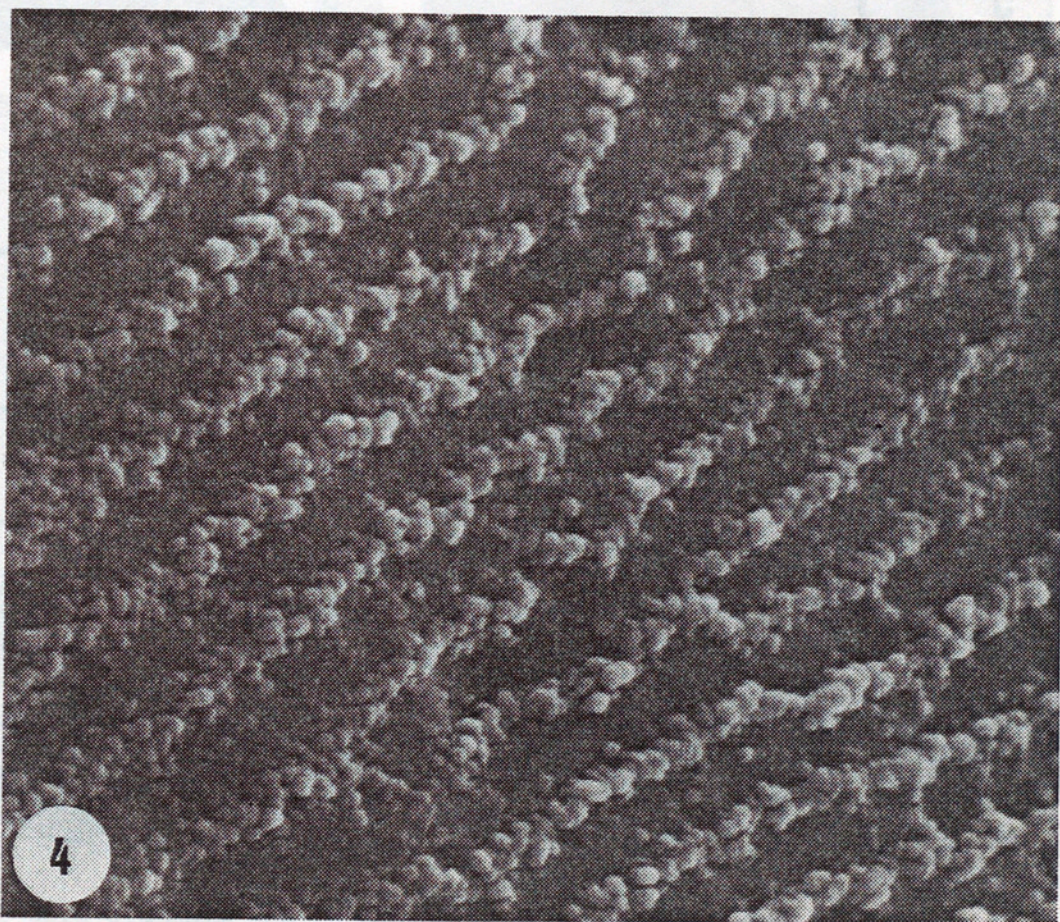
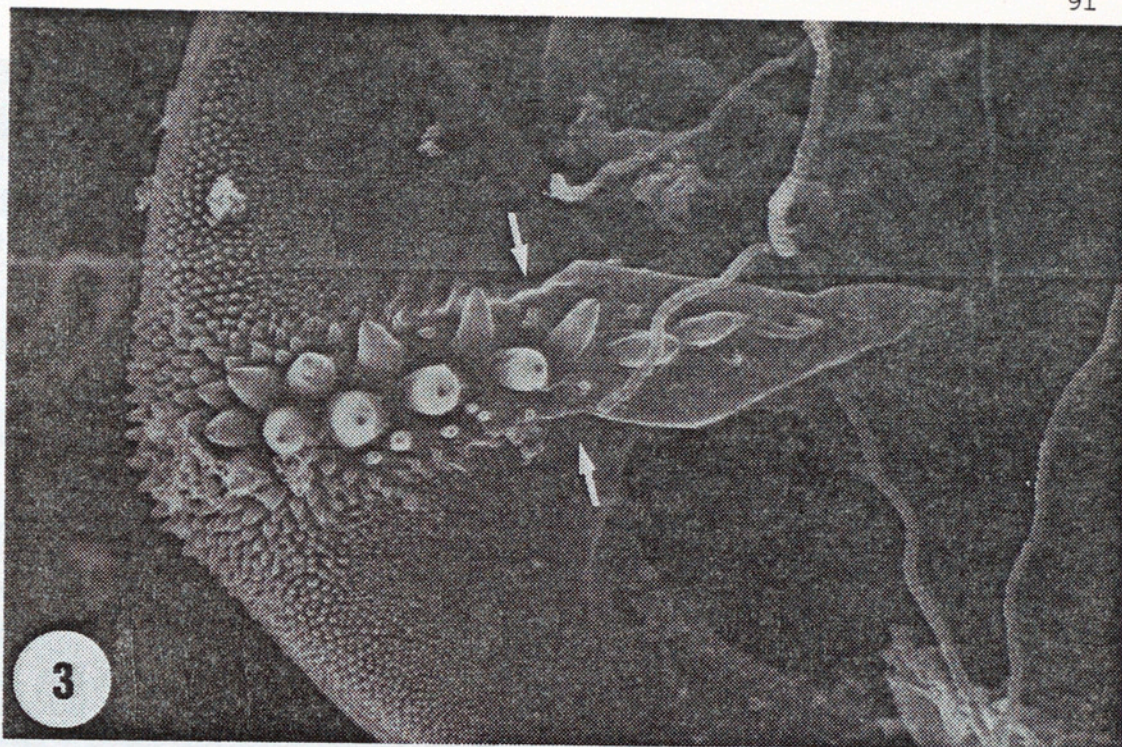
Larve glochidium d'Anodonta, présentée les valves ouvertes. D'après HERBERS.

mt, manteau embryonnaire fait de grosses cellules vacuolisées. — M, muscle adducteur. On voit aussi quatre paires des papilles sensorielles, le filament visqueux adhésif et les fossettes ciliées.



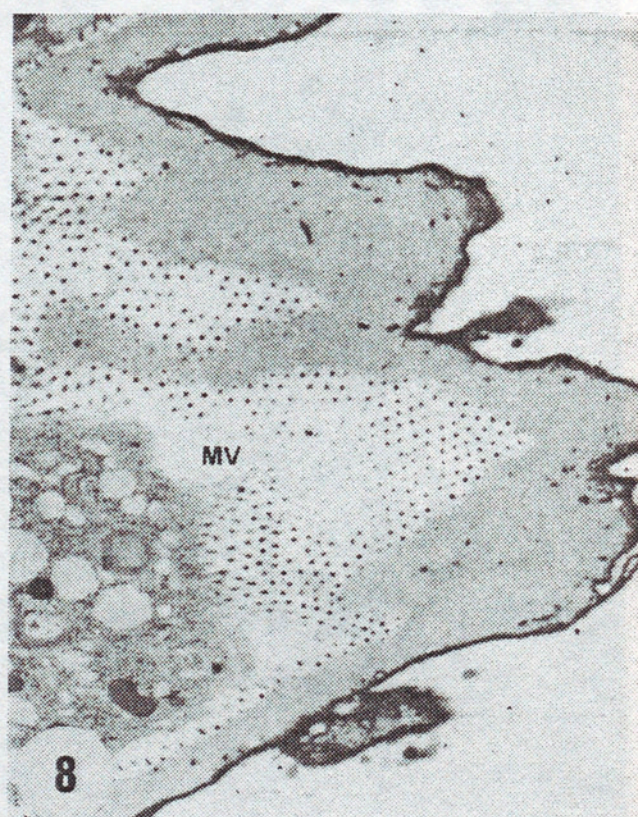
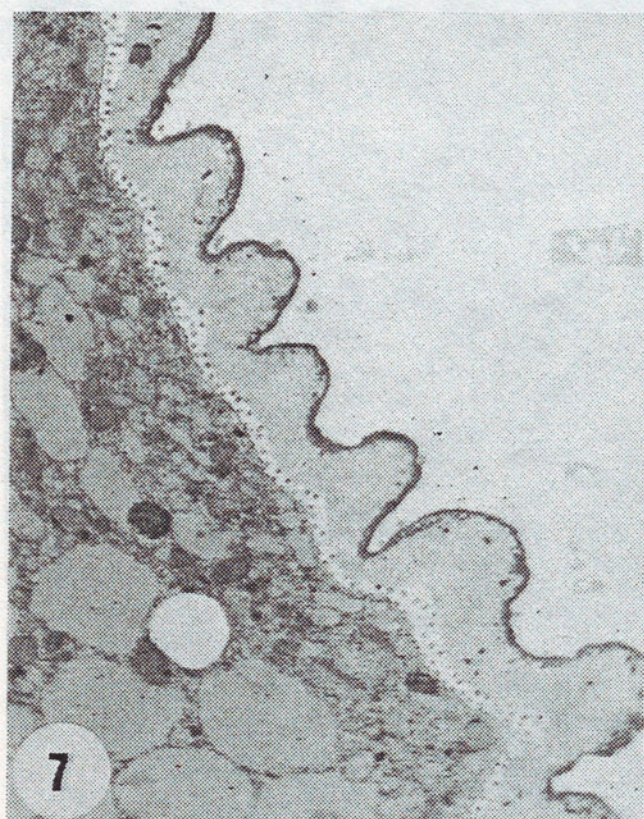
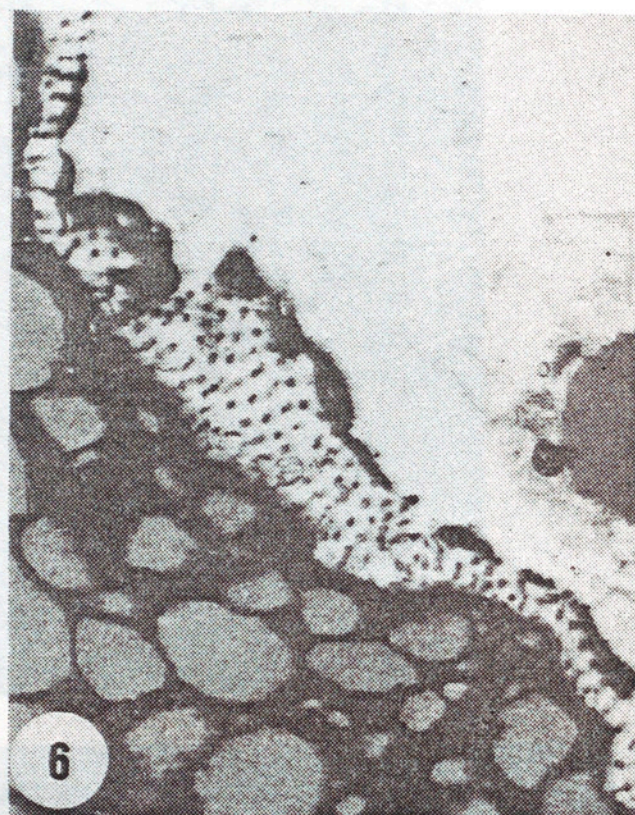
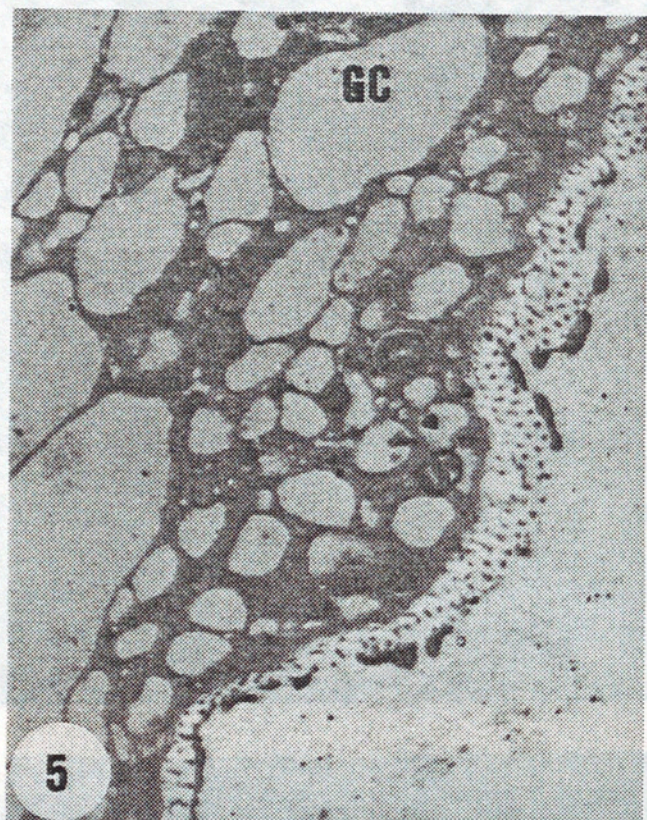
1-Aspecte triangular de les valves del gloquidi d'*Anodonta cygnaea*. Vegis l'emissió del filament. 260 x.

2-Detall d'un gloquidi amb les valves obertes. Observis els feixos musculars (*) així com el detall dels denticles (▶). 1.200 x

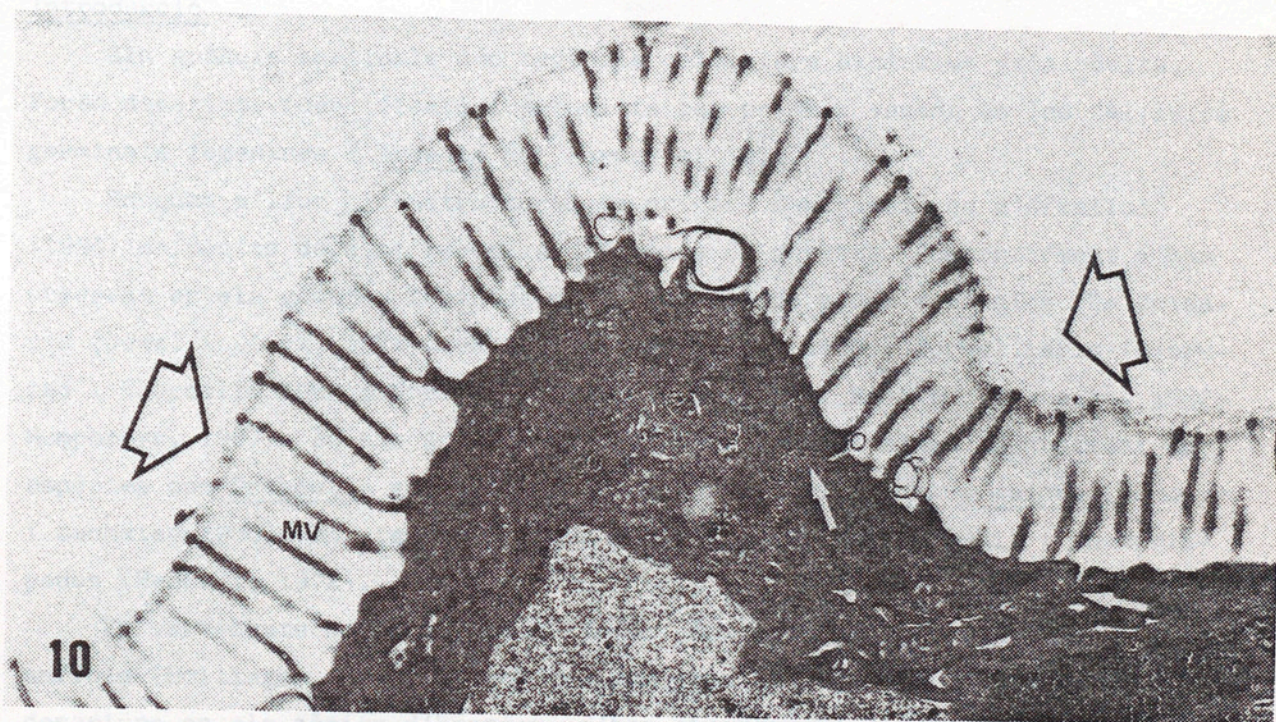
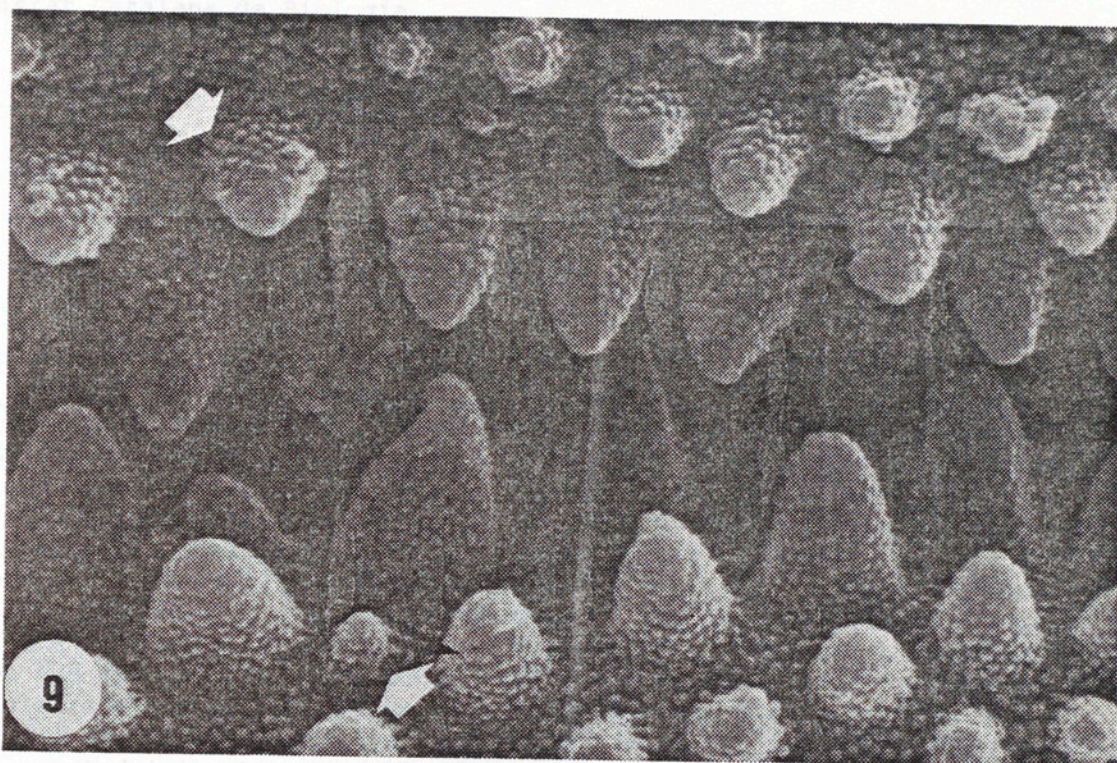


3-Imatge de l'ornamentació de la dent de la valva dorsal. La carena de denticles té interès sistemàtic. 1.600 x.

4-Las valves están totalmente solcadas per expansions microvilliars del mantell, molt ben ordenades en rengleres. 4.250 x.



Fot.: 5.,6.,7.,8: Diverses etapes de la formació de la coberta secundària dels oòcits d'Anodonta. Observis l'emissió de microvillis i la densitat de la matriu extracel.lular (fot. 5 i 6). En la fot.7 veiem un tall longitudinal de la coberta secundària i en la fot.8 un detall de tall transversal.



- 9 - Aspecte dels elements que formen la zona d'articulació de les valves. Vegis la riquesa en microvillis. 4.800 x.
- 10 - Tall de la closca del gloquidi a nivell d'uns dels elements de la carena de la fot.9. Vegis els microvillis (MV), en ocasions bifurcats, immersos en la matriux extracel.lular, molt desenvolupada. Contactes del tipus de unions septades son frequents entre les cèl.lules del mantell. (→). 16.000 x.