

## Estudio de la ultraestructura de la espermatogénesis de *Anadara tuberculosa* (Sowerbi 1833) (Mollusca: Pelecipoda: Arcidae)

## Ultrastructural study of the spermatogenesis of *Anadara tuberculosa* (Sowerbi 1833) (Mollusca: Pelecipoda: Arcidae)

Esperanza Ortíz<sup>1</sup>, Esther Uría<sup>1</sup>, Angélica Silva-Olivares<sup>2</sup>,  
Víctor Tsutsumi<sup>2</sup> y Mineko Shibayama<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Morfología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. E-mail: perabiol@yahoo.com.mx

<sup>2</sup>Departamento de Patología Experimental, Cinvestav-IPN. México

---

Ortíz, E., E. Uría, A. Silva-Olivares, V. Tsutsumi y M. Shibayama, 2003. Estudio de la ultraestructura de la espermatogénesis de *Anadara tuberculosa* (Sowerbi 1833) (Mollusca: Pelecipoda: Arcidae). *Hidrobiológica* 13 (2): 145-150.

### RESUMEN

*Anadara tuberculosa* bivalvo de la familia Arcidae, se distribuye ampliamente en las Costas del Pacífico, desde la Laguna de Ballenas (Baja California), hasta Perú. Las células germinales han sido descritas en microscopía óptica pero no su ultraestructura, por lo que el objetivo de este trabajo es describir las principales diferencias entre dichas células, así como la forma del acrosoma el cual puede contribuir como una característica más para la ubicación taxonómica de las especies de esta familia. Se encontró que las espermatogonias tienen un núcleo grande y esférico en posición central con la presencia de gránulos de heterocromatina esparcidos en el nucleoplasma, el retículo endoplasmático rugoso es escaso y está localizado hacia la periferia del núcleo, las mitocondrias son abundantes, y las vacuolas están dispersas en el citoplasma; en los espermatocitos primarios la heterocromatina está más condensada, las mitocondrias disminuyen en número con respecto a las espermatogonias; los espermatocitos secundarios presentan la heterocromatina distribuida hacia la periferia nuclear con proyecciones hasta el centro del núcleo, la cantidad de citoplasma disminuye con respecto a los tipos celulares anteriores. Las espermátidas presentan dos etapas de diferenciación, en la primera la cromatina está completamente condensada, las mitocondrias se incrementan en tamaño y migran al polo basal, en la segunda se observa el centríolo localizado entre las mitocondrias y el acrosoma. En los espermatozoides el acrosoma es de forma piramidal y el centríolo se encuentra entre las cinco mitocondrias características para esta especie. Los resultados muestran que 1) Los espermatozoides son de tipo primitivo 2) El centríolo se observa a partir de la fase de espermátida y no en etapas tempranas como en otras especies 3) Se encuentra como característica específica de especie la presencia de cinco mitocondrias y acrosoma de forma piramidal.

**Palabras clave:** *Anadara*, espermatogénesis, bivalvos, ultraestructura.

### ABSTRACT

*Anadara tuberculosa* is a bivalve mollusk of the Arcidae family. This species is found at the Pacific coast, from Laguna de Ballenas (Baja California, Mexico) to Peru. Different types of germ cells have been described at the light microscopic level; however, up to date, no ultrastructural studies of these cells have been performed. The aim of the present work was to determine the main ultrastructural features of the germinal cells, and

consequently to contribute on a better taxonomic characterization of different species of the Arcidae family. Spermatogonia were characterized by a large spherical and centrally localized nucleus. Heterochromatin was randomly scattered as dense granules throughout the nucleoplasm. Mitochondria were abundant, and vacuoles were seen dispersed in the cytoplasm. Primary spermatocytes had a more condensed chromatin. The number of mitochondria was lower than in spermatogonia. Secondary spermatocytes had nuclei with chromatin placed peripherically with dense granular projections to the center. Nucleus/cytoplasm ratio was lower as compared to the above mentioned cell types. Spermatids showed two stages of differentiation. At the first stage, chromatin was completely condensed with mitochondria increased in size and migrated to the basal pole of the cell. At the second stage, a centriole was seen localized between the mitochondria and acrosome. Spermatozoids showed a pyramidal acrosome and the centriole was placed intermixed with the typical five mitochondria, specific for this specie. Based in our ultrastructural data, we propose the following for this specie: 1) spermatozoids are of the primitive type 2) centriole is present up from the stage of spermatid and not at earlier stages as reported in other species and 3) five mitochondria with pyramidal acrosome are typical characteristic of this specie.

**Key words:** *Anadara*, spermatogenesis, bivalve, ultraestructure

## INTRODUCCIÓN

*Anadara tuberculosa* (Sowerbi, 1833) es un molusco bivalvo de la familia Arcidae, subfamilia Anadarinae, que se distribuye ampliamente en las Costas del Pacífico, desde la Laguna de Ballenas (Baja California), Mazatlán (Sinaloa), Salina Cruz (Oaxaca), hasta llegar a Perú (Squires *et al.* 1977).

*Anadara tuberculosa* es conocida en México como "pata de mula". Es un organismo que alcanza una talla promedio de 62 mm de altura por 49 mm de longitud; es típico de la zona de mareas, y alcanza su máxima densidad en las raíces de mangle. El intervalo de temperaturas en las zonas donde se desarrolla se encuentra entre los 17° C y los 27°C y en mangles pantanosos desde los 20.5°C a 35°C. En cuanto a la salinidad, los límites están entre los 30-40‰ para una población de mangles localizados en el Mogote, de la Bahía de la Paz Baja California Sur (Baqueiro *et al.* 1982).

En muchos grupos de vertebrados e invertebrados en los que se ha estudiado el epitelio de los túbulos seminíferos se encuentra que éste está compuesto de una población de células germinales en diferentes fases de su desarrollo y de células de soporte usualmente denominadas células de Sertoli. En el caso de *Anadara tuberculosa* los túbulos tienen un curso irregular con células en diferentes estadios de la espermatogénesis: espermatogonias, espermatocitos, espermatidas y espermatozoides, los cuales se organizan conformando estructuras piramidales en los túbulos (descritos con microscopia de luz por Ortíz y Uría, 1998). Por lo tanto en este trabajo se analiza por primera vez la ultraestructura de las células germinales y se describen las principales diferencias entre dichas células, así como la forma del acrosoma del espermatozoides, lo cual puede contribuir a una mejor caracterización taxonómica de las especies de ésta familia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares machos se colectaron en Bahía Magdalena, B. C. S, se tomaron pequeñas piezas representativas de la gónada, se fijaron en glutaraldehído al 2.5% en agua de mar a un pH de 8 durante 48h, posteriormente se lavaron con bicarbonato de sodio al 2.5 % y fueron postfijadas con tetróxido de osmio durante 1h (Buckland *et al.* 1986). Las muestras se deshidrataron en concentraciones graduales de etanol, tres cambios de 10 min cada uno y posteriormente se realizaron dos cambios de óxido de propileno de 20 min cada uno. Las piezas se infiltraron en 1:1 partes de óxido de propileno y resina epóxica y se incluyeron en Epon 812. Se realizaron cortes finos de 70 nm y se montaron en rejillas de cobre; estos se contrastaron en acetato de uranilo y citrato de plomo. Las muestras fueron observadas en el microscopio electrónico de transmisión (Zeiss EM-10).

## RESULTADOS

La espermatogénesis se puede dividir en tres fases: la primera o espermatocitogénesis, esta relacionada con la multiplicación mitótica y la maduración de las espermatogonias, la segunda se refiere a la meiosis y la tercera llamada espermiogénesis o espermateliósis, abarca la transformación de las espermatidas en espermatozoides. Las diferentes fases de la espermatogénesis se distribuyen de la periferia hacia el centro de los túbulos seminíferos.

En las células germinales en maduración, las espermatogonias son las que se encuentran en contacto con la lámina basal. En las capas ascendentes hacia la luz se presentan espermatocitos primarios, secundarios, espermatidas y espermatozoides; éstas células no guardan una estricta separa-

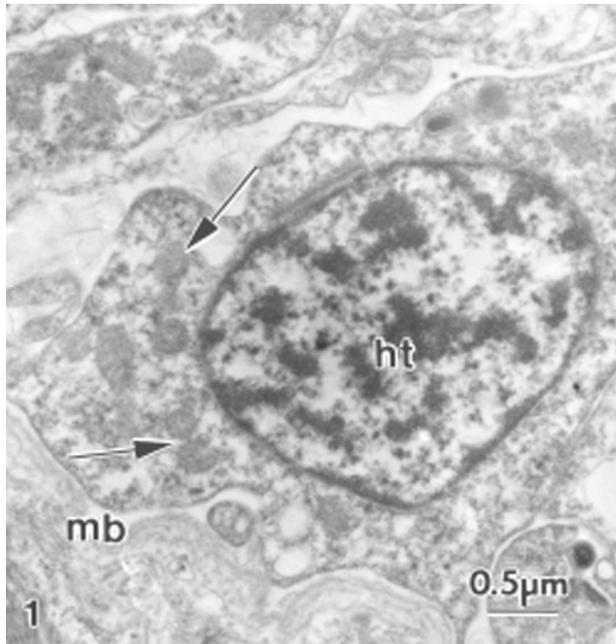


Figura 1. Espermatogonia de *A. tuberculosa*. Se observa la membrana basal (mb), núcleo central con heterocromatina (ht). En el citoplasma se observan abundantes mitocondrias (flecha).

ción de capas hacia el lumen ya que se pueden encontrar mezcladas unas con otras, como sucede en otros moluscos.

**Espermatocitogénesis:** Las espermatogonias en contacto con la membrana basal del túbulo seminífero, presentan un núcleo grande en posición central y se caracterizan por la presencia de gránulos de heterocromatina de diverso tamaño esparcidos en todo el nucleoplasma, el citoplasma presenta escasos organelos, el retículo endoplásmico rugoso está localizado alrededor del núcleo, las mitocondrias son abundantes (Fig.1)

Los espermatocitos primarios se forman por el proceso de mitosis de las espermatogonias, estos tienen un núcleo grande en posición central, la heterocromatina condensada es más abundante, su citoplasma presenta mitocondrias en menor cantidad con respecto a las espermatogonias (Fig. 2)

**Meiosis:** Los espermatocitos secundarios se forman por el proceso de meiosis de los espermatocitos primarios, en estas células la condensación de la heterocromatina es mayor y se desplaza hacia la periferia del núcleo, el cual es más pequeño que el de los primarios, el citoplasma presenta mitocondrias muy semejantes a las de los espermatocitos primarios. (Fig. 3)

Las espermátidas se forman a partir de los espermatocitos secundarios y en sus primeras etapas presentan un núcleo esférico central que ocupa prácticamente la totalidad de

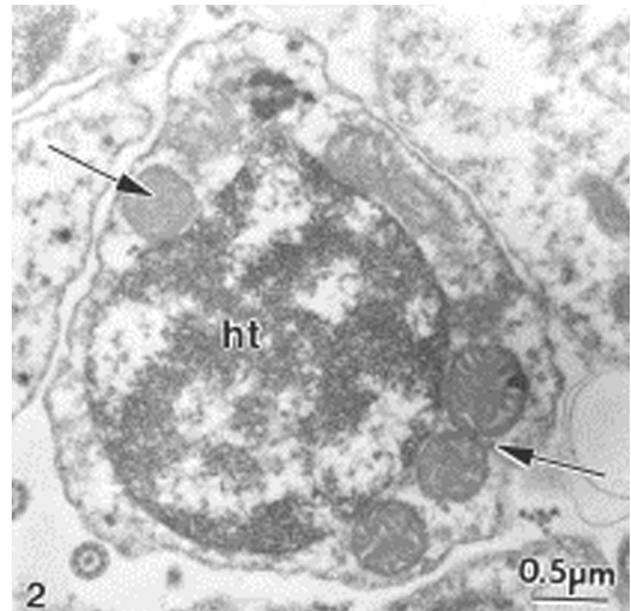


Figura 2. Espermatocito primario de *A. tuberculosa*. Presenta núcleo central con heterocromatina (ht), el citoplasma contiene mitocondrias (flecha).

la célula. La heterocromatina está condensada en el núcleo y el citoplasma forma únicamente un halo alrededor de éste. Las mitocondrias migran hacia el polo basal del núcleo y se incrementan en tamaño.

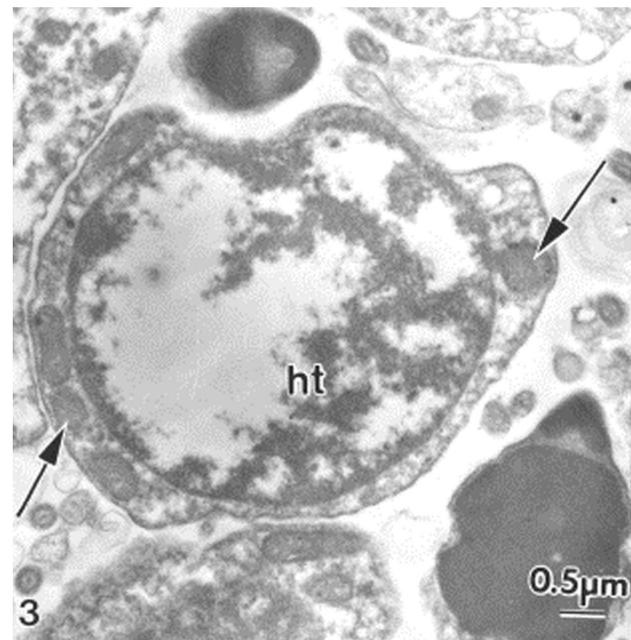


Figura 3. Espermatocito secundario de *A. tuberculosa*. La heterocromatina (ht) se localiza hacia la periferia del núcleo, en el citoplasma se observan mitocondrias (flecha).

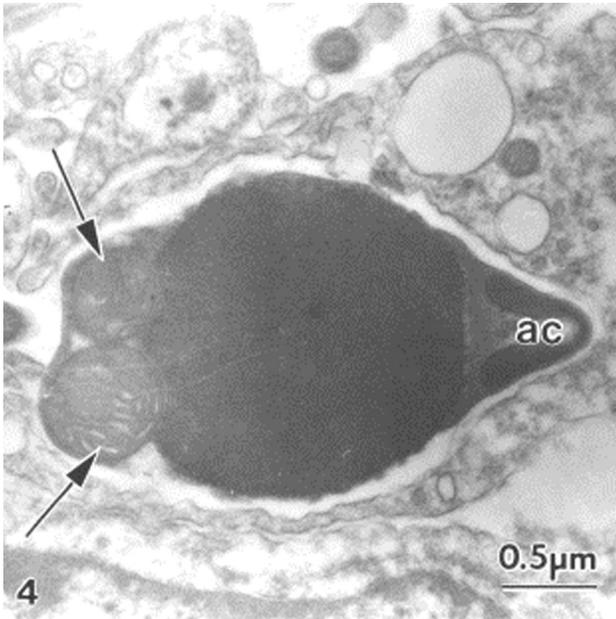


Figura 4. Espermatátida de *A. tuberculosa*. Se observa el núcleo con heterocromatina condensada, el acrosoma (ac) y las mitocondrias (flecha).

En las espermatátidas con mayor estado de diferenciación se observa el centriolo que se origina de uno de los dos centriolos el cual esta localizado en la parte basal del núcleo entre las mitocondrias y a partir de éste se inicia la formación del flagelo. (Fig. 4)

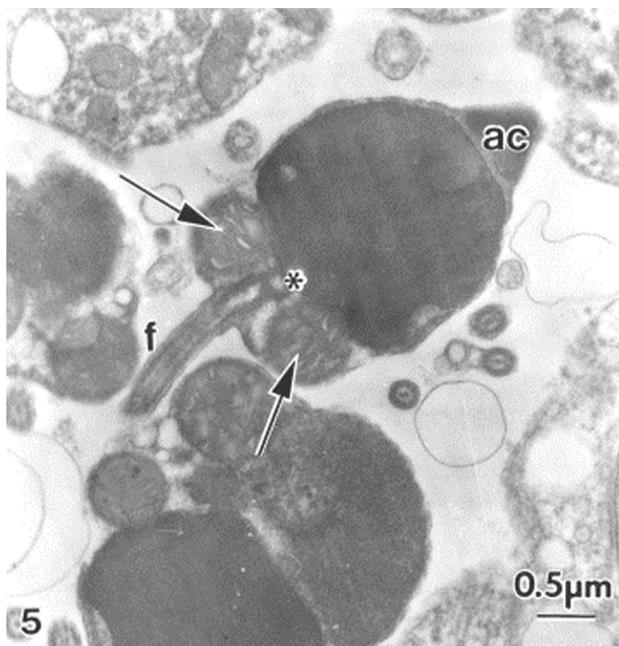


Figura 5. Espermatozoide de *A. tuberculosa*. Se observa el acrosoma (ac), las mitocondrias (flecha), el centriolo (\*) y el flagelo (f).

**Espermiogénesis:** Las espermatátidas que se derivan de la división de los espermatocitos secundarios sufren una compleja transformación en espermatozoides sin división celular en un proceso llamado espermiogénesis durante el cual se diferencian estructuras específicas como el acrosoma y el flagelo. Los espermatozoides migran hacia la luz de los túbulos seminíferos y están constituidos por tres regiones principales cabeza, cuello y flagelo. La cabeza contiene al núcleo con heterocromatina granular electrondensa y es esférico sin una invaginación hacia el polo anterior; el aparato de Golgi secreta numerosas vesículas las cuales se fusionan y forman la vesícula proacrosomal. El acrosoma es de forma piramidal, concavo hacia la parte apical de la célula y convexo hacia el núcleo, el espacio entre el acrosoma y el núcleo está ocupado por la sustancia subacrosomal. En la parte del cuello se encuentran cinco mitocondrias, con crestas bien desarrolladas y dispuestas en forma circular. El centriolo se encuentra entre las mitocondrias y esta compuesto por un número constante de microtúbulos dos de ubicación central y nueve pares periféricos, a partir de éste se forma el flagelo que también tiene el mismo arreglo de microtúbulos rodeados por la membrana plasmática (Figuras 5 y 6)

## DISCUSIÓN

En las fases que comprenden a la espermatocitogénesis (diferenciación de espermatogonia a espermatocito primario

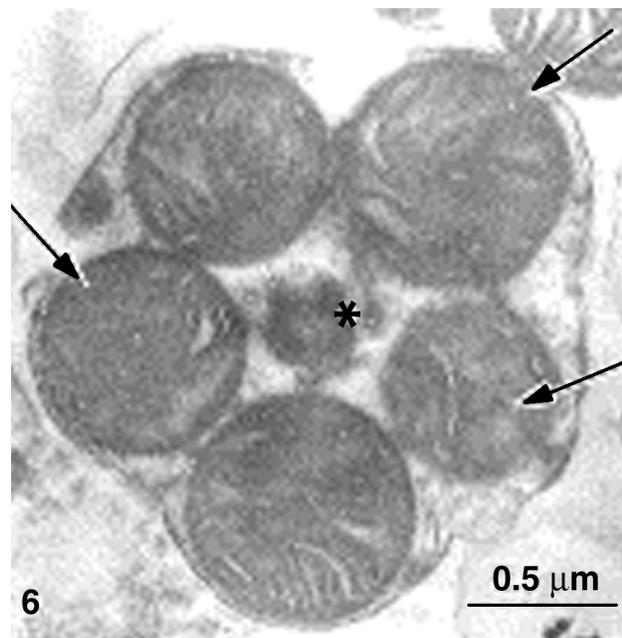


Figura 6. Corte transversal del cuello de un espermatozoide de *A. tuberculosa*. Se observa la disposición de cinco mitocondrias (flecha) y el centriolo (\*).

y de primario a secundario) y meiosis (diferenciación de espermatocono secundario a espermátida), las células en general presentan un núcleo grande de posición central con gránulos de heterocromatina de diverso tamaño y citoplasma con escasos organelos como son el retículo endoplásmico rugoso y mitocondrias. Las espermátidas tienen un núcleo esférico central con heterocromatina condensada y el citoplasma forma un halo alrededor de éste y las mitocondrias que se han incrementado en tamaño se localizan en el polo basal del núcleo. Dichas características coinciden con lo reportado para *A. granosa* (Suwanrajat, 1999) y para otros moluscos bivalvos de la familia Mytilidae (Garrido, 1996).

Los espermatozoides de *A. tuberculosa* corresponden a los de tipo primitivo (Franzen, 1955) los cuales se presentan en especies en donde la fertilización es externa ya que liberan sus gametos dentro del agua. Por la forma en que los huevos son fertilizados ya sea externa en el agua o interna en las hembras, el acrosoma del espermatozoide es el organelo directamente involucrado por el tipo de fertilización, ya que éste se presenta notablemente reducido en las especies de bivalvos con fertilización interna y bien desarrollado en los de fertilización externa (Franzen; 1955; Willbur, 1964 y Garrido, 1996). Willbur, (1964) indica también que los espermatozoides primitivos son iguales al espermatozoide eupireno o espermatozoide maduro ya que éstos son los que fertilizan al huevo. La forma del acrosoma también se asocia con el tipo de fertilización (Fretter y Graham, 1962), el acrosoma de *A. tuberculosa* es de forma piramidal y la sustancia subacrosomal es de material granular denso, lo cual coincide con lo reportado para *Anadara granosa* (Suwanrajat, 1999) difiriendo solamente en la forma del acrosoma que es más redondeada hacia la punta.

Según Suwanrajat (1999), la formación del flagelo se inicia desde la etapa de espermatocono, en el caso de *Anadara tuberculosa* esto no se observó, ya que la presencia del centríolo y la formación del flagelo se presentan en la etapa de espermátida. El flagelo del espermatozoide de *A. tuberculosa* presentó el complejo típico del axonema el cual tiene nueve pares de microtubulos periféricos y dos centrales lo cual coincide con lo reportado para *A. granosa* Suwanrajat (1999).

En el cuello del espermatozoide de *A. tuberculosa* se observó la presencia de cinco mitocondrias rodeando al centríolo, al igual que *A. granosa* que presenta de cuatro a cinco y de acuerdo con Suwanrajat (1999) esto podría ser una característica específica para cada especie.

Por lo que en el presente trabajo podemos concluir que los espermatozoides de *A. tuberculosa* presentan como características específicas, el acrosoma de forma piramidal debido a que la fertilización es externa, el centríolo se observa

a partir de la fase de espermátida y no en etapas tempranas como lo describe Suwanrajat (1999) y finalmente la presencia de cinco mitocondrias alrededor del centríolo formando un anillo en el cuello.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración del Sr. Dagoberto Carrasco, por su asistencia técnica.

## REFERENCIAS

- AUSTIN, C. R Y R.V. SHORTT. 1982. Células Germinales y Fertilización. La Prensa Médica Mexicana, S.A.
- BAQUEIRO, C. E., M. C. MUCIÑO Y R. MERINO. 1982. Análisis de una población de pata de mula *Anadara tuberculosa* sujeta a explotación intensiva en la Bahía de la Paz, Baja California Sur México. *Ciencia Pesquera* 3: 75-82
- BUCKLAND, N. J. Y S. CH. FU. 1986. Fine structure of Sertoli cells in three marine snails with a discussion on the functional morphology of Sertoli Cells in general. *Cell Tissue Research* 245: 305-313.
- CUEZZO, MA. G. 1995. Spermatogenesis and Sperm Structure in the Neotropical Pulmonate Snail *Scutalus tupacci* (d'Orbigny). *The Veliger* 38: 212-222.
- FRANZEN, A. 1955. Comparative morphological investigation into the spermatogenesis among Mollusca. *Zoology Bidr Uoos* 30: 339-456.
- FRANZEN, A. 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.
- FRETTER, V. Y A. GRAHAM. 1962. *British Prosobranch Molluscs*. Royal Society, London 775 pp.
- GARRIDO, O. Y C. S. GALLARDO. 1996. Ultraestructura of sperm in bivalve molluscs Of the Mytilidae family. *Invertebrate Reproduction and Development* 29: 95-102.
- GARTNER, P., L. Y L. J. HIATT. 1997. *Histología*, Mc-Graw Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V., México.
- HODGSON, A. N. Y BERNARD R. 1986. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia) *Gamete Research* 15:123-135.
- KUBO, M. 1977. The formation of a temporary acrosome in the spermatozoon of *Laternula limicola* (Bivalvia, Mollusca). *Journal Ultrastructure Research* 61:140-148.
- ORTIZ, E. Y URÍA, E. 1998. Ciclo reproductor de *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833). Enfoque histológico (Mollusca: Pelecipoda: Arcidae).

- Anales de la *Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México. 44*: 81-97.
- POPHAM J. D. 1974. Comparative morphometrics of the acrosome of the sperm of "externally" and "internally" fertilized sperms of the hip-worms (Teredinidae, Bivalvia, Mollusca). *Cell Tissue Research 150*: 291-297.
- ROSS, H. M., J. L. ROMRELI e I. G. KAYE. 1998. *Histología*. Tercera edición, Edit. Panamericana.
- SQUIRES, H.J., M. ESTEVÉS, O. BARONA y O. MORA. 1977. Mangrove Cocks, *Anadara* spp of the Pacific Coast of Colombia, *The Veliger 18*: 57-68
- STEVENS A. y LOWE J. 1999. *Histología Humana*, Segunda edición, Harcourt Brace. Madrid, España.
- SUWANRAJAT, J. y S. PARNRONG. 1999. Reproductive cycles of *Anadara granosa* L. In: Jebilung, Satun Province. *Journal Science Technology 12*: 341-351.
- WILBUR, M. K. y M. C. YONGE. 1964. *Physiology of Mollusca*. Academic Press. New York.

Recibido: 16 de octubre de 2002.

Aceptado: 27 de mayo de 2003.