

Descripción histológica del aparato reproductor masculino y formación del espermatóforo en *Emerita analoga* (Stimpson, 1857) (Decapoda: Anomura)

Histological description of the male reproductive system and formation of the spermatophore in *Emerita analoga* (Stimpson, 1857) (Decapoda: Anomura)

Marcelo González y Humberto Cerisola

Instituto de Biología. Universidad Católica de Valparaíso. Casilla 4059, Valparaíso, Chile.
hcerisola@aix.ucv.cl

RESUMEN

En anomuros, los espermatozoides se agregan en manojos llamados espermatóforos. El presente trabajo describe la formación del espermatóforo en *Emerita analoga*. Los animales fueron recolectados en la zona intermareal de Playa Negra, Valparaíso, Chile. Se disecaron los testículos y los vasos deferentes de los organismos vivos y se procesaron siguiendo las técnicas habituales para microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido. El tracto reproductor masculino del cangrejo de arena *Emerita analoga* consiste en un órgano testicular pareado y dos vasos deferentes. Los testículos están compuestos por acinos que presentan distinta actividad espermatogénica. Cada acino tiene una actividad sincrónica predominando uno o dos estados. La región proximal del vaso deferente está constituida por un epitelio secretor, cuyo producto forma la capa primaria del tubo espermatofórico. La región media forma el pedúnculo y la matriz secundaria; esta región se caracteriza por un tiflosole prominente. La región distal forma la base o pie del espermatóforo. Las secreciones producidas por las diferentes zonas del vaso deferente están constituidas principalmente por mucopolisacáridos. El espermatóforo de *E. analoga* está constituido por un tubo espermatofórico que contiene en su interior a los espermatozoides embebidos en una matriz primaria. Este tubo se encuentra unido por medio de un pedúnculo a un pie o base y presenta algunas diferencias respecto a la mayoría de los anomuros especialmente por la presencia de un tubo espermatofórico continuo, condición que es similar al espermatóforo de los crustáceos macruros.

Palabras clave: Crustacea, cangrejo de arena, espermatóforo, estructura, reproducción, Chile.

ABSTRACT

In anomurans the sperm become aggregated in sperm bundles called spermatophores. The present paper describes the spermatophore formation of the sand crab *Emerita analoga*. The animals were collected on the beach at Playa Negra, Valparaíso, Chile. The testes and vas deferens were dissected from living specimens and fixed. They were processed for light and scanning electron microscopy. Male reproductive tract of the sand crab *Emerita analoga* consists of paired testes and two vas deferens. Testes are formed by acinous structures which present different spermatogenic activity. In each acinus a synchronic activity occurs with one or two predominant stages. The proximal vas deferens is formed by a secretory epithelium and the product forms the primary layer of the spermatophoric tube. The medial region forms the peduncle and the secondary matrix being this region characterized by a prominent tiflosole. The distal region forms the base or foot of the spermatophore. Secretions produced by the different portions of the vas deferens are constituted principally by mucopolysaccharides. The spermatophore of *E. analoga* is tubular and contains the spermatozooids embedded in a primary matrix. This structure is fixed by a peduncle to a part of the spermatophore which forms a foot or base. If we compared with most of anomurans, it presents some differences, specially by a continuous spermatophoric tube, condition that is similar to the spermatophore of crustacea macrura.

Key words: Crustacea, sand crab, spermatophore, structure, reproduction, Chile.

INTRODUCCION

En crustáceos, la transferencia de espermatozoides desde el macho a la hembra

durante la cópula se realiza por medio de espermatóforos (Hinsch 1991a, Mann 1985). Estos se forman en los vasos deferentes donde la masa espermática se rodea por

otras secreciones que formarán el espermatóforo definitivo (Krol *et al.* 1992). Los espermatóforos pueden ser agrupados según un criterio morfológico en dos tipos: pedunculados y no pedunculados (Mann 1985). Para los decápodos anomuros los primeros son característicos, aunque Subramoniam (1984) reporta para *Emerita asiática* y *Albunea symnista* espermatóforos parecidos al tipo macrura.

Algunos estudios realizados en decápodos anomuros describen el espermatóforo y su formación (Matthews 1953, 1956, 1957, Greenwood 1972, Subramoniam 1977, 1984, Hinsch 1980, 1991b, Tudge 1991). Estos autores dan mucha importancia a las secreciones producidas por el epitelio de los vasos deferentes en la formación del espermatóforo, como también su composición química, sin embargo es poco conocida su función fisiológica. Estos han sido relacionados con funciones de protección, nutrición del espermatozoide, prevención a la deshidratación y función antimicrobiana (Hinsch 1991b).

El objetivo del presente trabajo es describir la organización histológica del testículo y vaso deferente, como también la estructura del espermatóforo en *Emerita analoga* por medio de microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido.

MATERIALES Y METODOS

Machos maduros sexualmente del cangrejo de arena *Emerita analoga* fueron recolectados en la zona intermareal durante marzo a noviembre de 1995, en Playa Negra, Valparaíso, Chile.

Para la observación con microscopía de luz (ML), los testículos y vasos deferentes fueron removidos y fijados en Bouin o en glutaraldehído al 2,0% en buffer cacodilato 0,1 M (pH 7,4). Las muestras fijadas en Bouin por cuatro horas se deshidrataron en alcohol, aclararon con xilol y se incluyeron en

Paraplast. Secciones de 5 μ m de grosor fueron teñidas con hematoxilina-eosina, reactivo de Schiff (PAS) y Azul Alcian para reconocer mucopolisacáridos ácidos (pH 3,0) y sulfatados (pH 1,0) acorde a los procedimientos descritos por Spannhof (1966). Las muestras fijadas en glutaraldehído por tres horas fueron postfijadas en tetróxido de osmio al 2% en buffer cacodilato 0,1 M a pH 7,4, se deshidrataron en alcohol de gradación creciente, y luego se incluyeron en resina epóxica (epon Medcast). Se obtuvieron cortes de 1 μ m en un ultramicrotomo y se tiñeron con azul de toluidina al 1%.

Para la observación del tejido por microscopía electrónica de barrido (MEB), pequeñas piezas de espermatóforos fueron fijadas en glutaraldehído al 2,5% en buffer cacodilato 0,1 M (pH 7,8) conteniendo 0,1 M de sucrosa por tres horas a temperatura ambiente. Se deshidrataron en grados crecientes de alcohol, se secaron por medio de punto crítico con CO₂ líquido como medio intermedio y se sombrearon con oro. La observación y las fotografías se realizaron en un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-25 S-II.

RESULTADOS

MORFOLOGIA GENERAL DEL SISTEMA REPRODUCTOR

El sistema reproductor del macho se ubica a lo largo del cefalotórax en posición dorsal al hepatopáncreas. Consiste en un órgano testicular pareado, pero fusionado en su parte posterior, continuándose con dos conductos deferentes. Presenta cuatro lóbulos: dos de éstos, de mayor tamaño, se extienden hacia la región anterior y los otros dos, más pequeños, se extienden lateralmente. Todos los lóbulos se comunican en la parte posterior del testículo por una unión media. De esta zona se originan los vasos deferentes que desembocan en el quinto par de periópodos (Fig. 1).

HISTOLOGIA DEL TESTICULO

Al corte histológico, cada lóbulo se compone de varios acinos que presentan distinta actividad espermatogénica. Cada acino está recubierto por una delgada capa de tejido conjuntivo y en el interior de uno de éstos puede apreciarse una actividad espermatogénica sincrónica, pero diferente en cada acino. Se reconoce mayoritariamente un tipo celular de la línea espermatogénica en el centro del acino y las espermatogonias, que son minoritarias, se ubican cerca de la lámina basal. Estas tienen un tamaño aproximado de 13-15 μm de diámetro y se caracterizan por presentar un núcleo grande con cromatina reticulada y una cantidad escasa de citoplasma (Fig. 2).

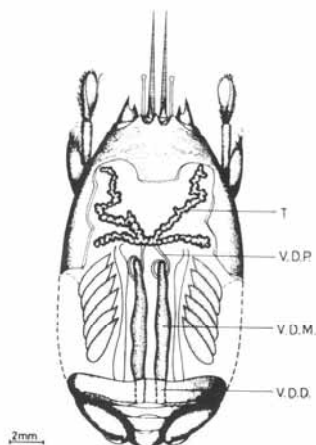


Figura 1. Representación esquemática del aparato reproductor masculino de *Emerita analoga*. Vista dorsal. T, testis. VDP, vaso deferente proximal. VDM, vaso deferente medio. VDD, vaso deferente distal.

Figure 1. Graphic reconstruction of the male reproductive organs of *Emerita analoga*. Dorsal view. T, testes. VDP, proximal vas deferens. VDM, middle vas deferens. VDD, distal vas deferens.

Según su morfología externa, en el vaso deferente es posible reconocer tres porciones: una porción proximal o vaso deferente proximal (VDP), que constituye un tubo delgado y enrollado; una porción media o vaso deferente medio (VDM), que es rectilínea pero de mayor grosor que la región proximal y, finalmente, una región distal o vaso deferente distal (VDD), que también es rectilínea, pero más corta y de menor grosor que la región media.

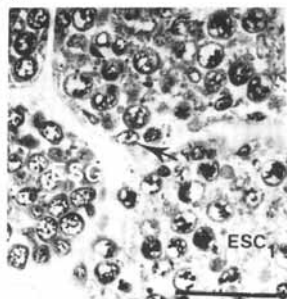


Figura 2. Acinos testiculares. ESG, espermatogonias. ESC₁, espermatoцитos primarios. Flechas, célula accesoria. Microscopia de luz. Tinción Azul de Toluidina. Barra = 60 μm .

Figure 2. Testicular acinis. ESG, spermatogonia. ESC₁, primary spermatocytes. Arrows, indicate accessory cell. Light microscopy. Toluidine Blue stain. Scale bar = 60 μm .

Los espermatoцитos tienen un diámetro aproximado de 18-21 μm y presentan un núcleo característico en la primera profase meiótica. En los acinos que contienen espermátidas es posible reconocer dos tipos de éstas que se encuentran en diferentes grados de

maduración. Las tempranas presentan un núcleo grande con la cromatina condensada en la periferia y un citoplasma que contiene gran cantidad de vesículas (Fig.3).

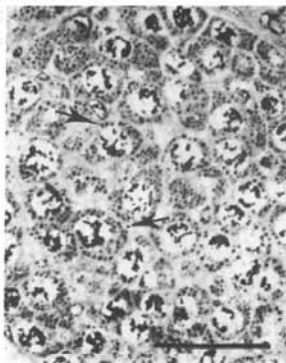


Figura 3. Acino testicular. Flechas indican espermátidas tempranas. Microscopía de luz. Tinción Azul de Toluidina. Barra = 50 μm .

Figure 3. Testicular acinus. Arrows indicate early spermatids. Microscopy light. Toluidine Blue stain. Scale bar = 50 μm .

Estas vesículas en las espermátidas tempranas se fusionan para formar espermátidas bipolares o tardías, caracterizándose por tener, en los polos opuestos, un núcleo pequeño y una vesícula acrosomal en formación (Fig. 4). En todos los acinos se reconocen células acompañantes o accesorias, que se ubican cerca de la lámina basal del acino y se caracterizan por poseer un núcleo alargado con la cromatina condensada en la periferia y escaso citoplasma.

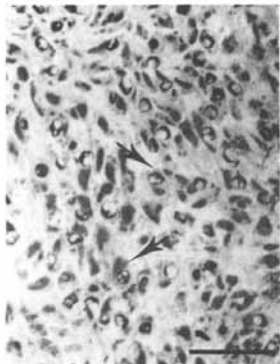


Figura 4. Acino testicular. Flechas indican espermátidas bipolares. Microscopía de luz. Tinción Azul de Toluidina. Barra = 60 μm .

Figure 4. Testicular acinus. Arrows indicate bipolar spermatids. Light microscopy. Toluidine Blue stain. Scale bar = 60 μm .

Los espermatozoides en los acinos se caracterizan por presentar una gran vesícula acrosomal alargada y un núcleo basófilo con límites poco definidos (Fig. 5). Los espermatozoides son transferidos desde los acinos hacia un túbulo colector embebido en una matriz primaria, que consiste en una secreción que tiene características de ser PAS y Azul Alcían negativas (Fig. 6). El túbulo colector se presenta revestido por un epitelio cúbico simple con escaso tejido conjuntivo y carente de tejido muscular. Las células de este epitelio presentan núcleos ovoides y la cromatina condensada en la periferia (Fig. 6). No se observa actividad secretora en las células del epitelio del túbulo colector.

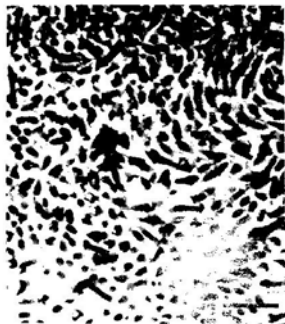


Figura.5. Acino testicular conteniendo espermatozoides maduros. Microscopía de luz. Tinción Azul de Toluidina. Barra = 17 μ m.

Figure 5. Testicular acinus containing mature spermatozoa. Light microscopy. Toluidine Blue stain. Scale bar = 17 μ m.

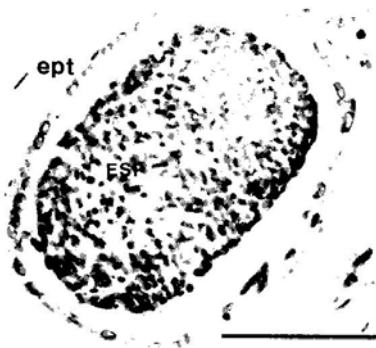


Figura 6. Corte transversal del túbulo colector. ESP, espermatozoides. Ept, epitelio cúbico. Microscopía de luz. Tinción Hematoxilinaeosina Barra = 70 μ m.

Figure 6. Transverse section of collector tubule. ESP, spermatozoa. Ept, cuboidal epithelium. Light microscopy. Hematoxylin-eosin stain. Scale bar = 70 μ m.

HISTOLOGIA DEL VASO DEFERENTE Y FORMACION DEL ESPERMATOFORO

Desde el túbulo colector que se encuentra en el testículo los espermatozoides son transportados hacia la región proximal del vaso deferente (VDP). Este segmento presenta un epitelio alto secretor, además esta formado por una delgada capa de tejido conjuntivo y carece de células musculares. En esta zona del vaso deferente se forma un compuesto que es fuertemente PAS y Azul Alcian positivo y que va a rodear a la masa espermática constituyendo la capa primaria del tubo espermatofoórico (Fig. 7). Esto indica que esta capa esta constituida principalmente por mucopolisacaridos ácidos sulfatados debido a que se tiñen fuertemente con la tinción Azul Alcian a pH 1,0.



Figura 7. Corte transversal del vaso deferente proximal, VDP. Te, tubo espermatofoórico. Ept, epitelio. Flecha, capa primaria. Microscopía de luz. Tinción Azul de Alcian. Barra = 116 μ m.

Figure 7. Transverse section of proximal vas deferens, VDP. Te, spermatofoeric tube. Ept, epithelium. Primary layer (arrow). Light microscopy. Hematoxylin-eosin stain. Scale bar = 116 μ m.

La región media del vaso deferente cambia morfológicamente respecto a la anterior. Se caracteriza por tener un diámetro y longitud mayor que los otros segmentos. Este segmento está revestido por un epitelio alto

secretor. Hacia el interior del lumen y a lo largo de todo el segmento se encuentra el tiflosole, que corresponde a un pliegue de la pared con modificación de su epitelio (Fig. 8). En este segmento el tubo espermatofórico comienza a plegarse y es embebido por una matriz secundaria de aspecto globular que es PAS y Azul Alcian positiva, constituida por mucopolisacáridos con un menor grado de sulfatación, en comparación con la capa primaria. En esta zona se forma el pedúnculo, de material acelular, que formará parte del espermátforo (Fig. 8).

espermátforo que unirá por medio del pedúnculo al tubo espermatofórico. La matriz secundaria en este segmento posee las mismas características histoquímicas que la región media (Fig. 9).

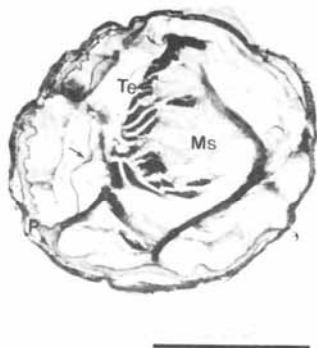


Figura 9. Corte transversal del vaso deferente distal VDD. Te, tubo espermatofórico. Ms, matriz secundaria. P, pie del espermátforo. Flecha, pedúnculo. Microscopía de luz. Tinción Hematoxilina-cosina. Barra = 200 μ m.

Figure 9. Transverse section of distal vas deferens. Te, spermatophoric tubule. Ms, secondary matrix. P, foot of the spermatophore. Arrow indicates peduncle. Light microscopy. Hematoxylin-eosin stain. Scale bar = 200 μ m.

La observación de los cortes histológicos con microscopía de luz y la observación con microscopía de barrido indica que el tubo espermatofórico se encuentra muy plegado. Finalmente el espermátforo extruido del vaso deferente consiste en un tubo espermatofórico unido por el pedúnculo a un pie o base de material acelular (Fig. 10). La matriz globular que embebe al tubo espermatofórico al interior del conducto deferente se disuelve al entrar en contacto con el agua, así el tubo comienza a desplegarse. Mediante MEB es posible apreciar en la superficie de la

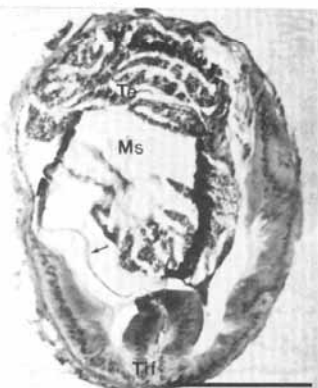


Figura 8. Corte transversal del vaso deferente medio, VDM. Tif, tiflosole. Te, tubo espermatofórico. Ms, matriz secundaria. Flecha, pedúnculo. Microscopía de luz. Tinción Hematoxilina-eosina. Barra = 300 μ m.

Figure 8. Transverse section of middle vas deferens, VDM. Tif, typhlosole. Te, spermatophoric tubule. Ms, secondary matrix. Arrow indicate the peduncle. Light microscopy. Hematoxylin-eosin stain. Scale bar = 300 μ m.

La región más distal del vaso deferente es más corta que las regiones anteriores y se caracteriza principalmente por no poseer un tiflosole, en comparación con el segmento medio. En esta zona se forma el pie o base del

parte dorsal del tubo espermatofórico una línea a manera de cresta engrosada formada por

material acelular que lo recorre en toda su extensión (Fig. 11).

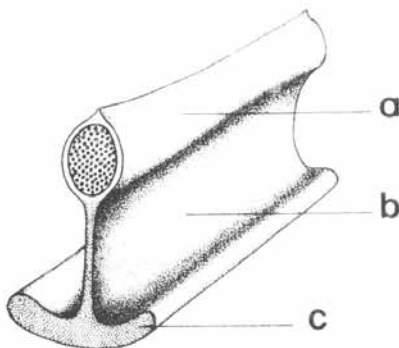


Figura 10. Representación esquemática del espermatóforo. a, tubo espermatofórico. b, pedúnculo. c, pie o base.

Figure 10. Schematic representation of the spermatophore. a, spermatophoric tubule. b, peduncle. c, foot or base.

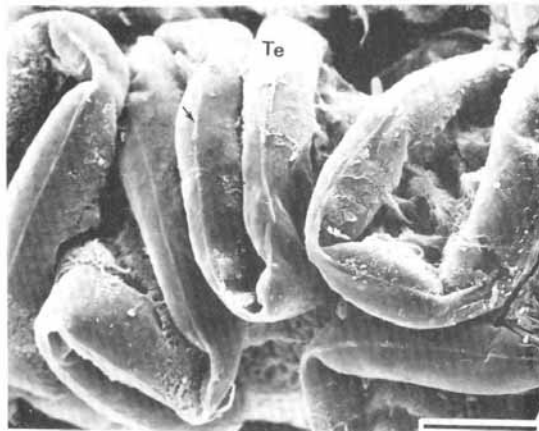


Figura 11. Tubo espermatofórico extruido. Te, tubo espermatofórico. Flecha, cresta superficial engrosada. Microscopía de barrido. Barra = 100 μ m.

Figure 11. Extruded spermatophoric tubule. Te, spermatophoric tubule. Arrow indicates a ridge superficially at the spermatophore. Scanning electron microscopy. Scale bar = 100 μ m.

DISCUSION

El aparato reproductor masculino de *Emerita analoga* corresponde en su aspecto general a lo informado por Osorio *et al.* (1967) para la misma especie, pero en dicho trabajo no se analiza la estructura histológica. Por otra parte, el aparato reproductor es similar al reportado para *Emerita asiatica* por Subramoniam (1981, 1984), aunque es diferente a lo observado en *Emerita analoga* en cuanto a la lobulación del testículo y además no se informa con mayor profundización respecto a la estructura testicular.

El presente estudio determinó que el testículo esta constituido por acinos, en cuyo interior se desarrolla una actividad espermatogénica sincrónica, pero diferente en cada acino. Esta forma de gametogénesis también ocurre en la langosta roja Hawaiana *Enoplometopus occidentalis* (Matthews 1954, Haley 1984).

Las células acompañantes que se presentan en los acinos son similares a las reportadas por Matthews (1954) y Haley (1984) para la langosta *Enoplometopus occidentalis*. Estas células quizás sean equivalentes a las descritas por Fielder (1964) y Silberbauer (1971) para la langosta *Jasus lalandii*, denominadas por ellos con el nombre de células de Sertoli. Haley (1984) propuso el nombre de células acompañantes. Este nombre es más apropiado ya que no se conoce claramente el rol fisiológico de estas células. Se estima que en *Emerita analoga* estas células aportarían la secreción que constituye la matriz primaria que embebe a los espermatozoides en el acino.

En este estudio el túbulo colector esta formado por un epitelio cúbico simple, igual al que se presenta en *Enoplometopus occidentalis* (Haley 1984), en el camarón *Procambarus clarkii* (Krol *et al.* 1992) y en el cangrejo *Geryon fenneri* (Hinsch 1988). Difiere del

epitelio del túbulo colector que presenta *Panulirus penicillatus* (Matthews 1951), el cual es estratificado o multinucleado. La falta de actividad secretora de las células epiteliales del túbulo colector en *Emerita analoga*, también es característica del epitelio del cangrejo hermitaño *Dardanus asper* (Matthews 1953) y del camarón *Penaeus kerathurus* (Malek & Bawab 1974). Además la carencia de musculatura indicaría que no participaría activamente en el transporte de los espermatozoides y al parecer éstos serían movidos por la presión ejercida por la propia secreción que constituye la matriz primaria producida en los acinos.

En *Emerita analoga* el vaso deferente proximal se caracteriza por estar constituido por un epitelio de células altas con actividad secretora. Este segmento del vaso deferente ha sido reportado para otros crustáceos decápodos (Matthews 1951, 1954, Berry & Heydorn 1970, Silberbauer 1971, Greenwood 1972, Malek & Bawab 1974, Haley 1984, Subramoniam 1984, Radha & Subramoniam 1985, Kooda-Cisco & Talbot 1986, Talbot & Beach 1989). Para crustáceos anomuros se ha determinado que este segmento participa activamente en la formación del espermátforo (Matthews 1953, 1957, Greenwood 1972, Subramoniam 1984). Se observó que en esta zona se forma la capa primaria del espermátforo, siendo distinto a *Emerita asiatica* (Subramoniam 1984) ya que en esta especie y en la misma zona, también se forma el pedúnculo. De esta manera en el VDP el tubo espermátforico queda constituido por los espermatozoides embebidos en una matriz que es PAS y Azul Alcian negativa más una capa primaria, que por el contrario, es PAS y Azul Alcian positiva, lo que indicaría la presencia de mucopolisacáridos ácidos sulfatados al igual que en los cangrejos de arena *Emerita asiatica* y *Albunea symnista* que permitirían el endurecimiento del tubo espermátforico al tomar contacto con el agua (Subramoniam 1984).

En crustáceos braquiuros, el VDP es secretor y el VDM tiene función de almacenamiento (Hinsch & Walker 1974), sin embargo, en macruras y anomuros el VDM es altamente secretor por la presencia de un tiflosole. La región descrita en el presente estudio para *Emerita analoga* como vaso deferente medio, sería similar a la descrita por Subramoniam (1984) para *Emerita asiatica* y *Albunea symnista* como vaso deferente distal. En esta zona tanto para *Emerita analoga*, *Emerita asiatica* y *Albunea symnista* se presenta un tiflosole unilobulado. La presencia de esta estructura en esta zona del vaso deferente también es característica para varios crustáceos macruros como las langostas *Panulirus penicillatus* (Matthews 1951), *Jasus lalandii* (Silberbauer 1971), *Enoplometopus occidentalis* (Haley 1984) y *Panulirus interruptus* (Martin et al. 1987). La matriz gelatinosa que es secretada en esta zona y embebe al tubo espermatofórico, tiene características histoquímicas similares a *Emerita asiatica* y *Albunea symnista* ya que su menor grado de sulfatación permitiría su disolución con el agua.

Los espermatoforos pedunculados que son comunes para los crustáceos anomuros, se caracterizan por presentar una *ampulla* llena de espermatozoides unida a un pedúnculo y éste, a su vez, unido a un pie o pedestal (Mann 1985). Los cangrejos hermitaños por lo general presentan este tipo de espermatoforo (Tudge 1991), sin embargo, los espermatoforos descritos para algunos miembros del infraorden anomura pertenecientes a la superfamilia Paguroidea (Matthews 1957) y a la superfamilia Hippoidea (Subramoniam 1977,

1984) presentan espermatoforos similares a los de crustáceos macruros.

El espermatoforo de *Emerita analoga* difiere del descrito por Matthews (1957) para *Aniculus maximus* y al descrito por Subramoniam (1984) para *Albunea symnista*, ya que estos no presentan pedúnculo. El espermatoforo de *Emerita analoga* tendría mayor semejanza con el de *Emerita asiatica* por la presencia, en las dos especies, de un pedúnculo y una base o pie, pero difieren considerablemente en que el tubo espermatofórico de *Emerita analoga* no presenta interrupciones para formar espermatoforos individuales. Esta última característica indicaría que la musculatura del vaso deferente y la forma del lumen no participarían mayormente en determinar la forma del espermatoforo como lo proponen Greenwood (1972) y Matthews (1953) para los espermatoforos de crustáceos anomuros.

Debido a la forma del tubo espermatofórico de crustáceos anomuros, Subramoniam (1984) estima que *Emerita asiatica* y *Albunea symnista* tienen un espermatoforo semejante al que presentan los crustáceos macruro. Por consiguiente, la presencia de un tubo espermatofórico que no presenta interrupciones en *Emerita analoga* aportaría más evidencias para proponer que estos cangrejos anomuros de arena podrían estar en un camino intermedio en la evolución desde espermatoforos tubulares del tipo macrura, hacia los espermatoforos pedunculados característicos en crustáceos anomuros.

LITERATURA CITADA

- Berry, PF & AEF Heydom. 1970. A comparison of the spermatophoric masses and mechanisms of fertilization in South African spiny lobsters (Palinuridae). Investigational Report of the Oceanographic Research Institute (Durban) 25: 1-18.
- Fielder, DR. 1964. The spiny lobster, *Jasus lalandii* (H. Milne-Edwards), in South Australia. II. Reproduction. Australian Journal Marine Freshwater Research 15: 133-144.

- Greenwood, JG. 1972. The male reproductive system and spermatophore formation in *Pagurus novae-zelandiae* (Dann) (Anomura: Paguridea). *Journal of Natural History* 6: 561-574.
- Haley, SR. 1984. Spermatogenesis and spermatophore production in the Hawaiian red lobster *Enoplometopus occidentalis* (Randall) (Crustacea, Nephropidae). *Journal of Morphology* 180: 181-193.
- Hinsch, GW & MH Walker. 1974. The vas deferens of the spider crab, *Libinia emarginata*. *Journal of Morphology* 143: 193-207.
- Hinsch, GW. 1980. Spermiogenesis in *Coenobita clypeatus*, I. Sperm structure. *International Journal of Invertebrate Reproduction* 2: 189-198.
- Hinsch, GW. 1988. Morphology of the reproductive tract and seasonality of reproduction in the golden crab *Geryon fenneri* from the eastern Gulf of Mexico. *Journal of Crustacean Biology* 8: 254-261.
- Hinsch, GW. 1991a. Structure and chemical content of the spermatophores and seminal fluid of reptantian decapods. En: Bauer, RT & JW Martin (eds), *Crustacean Sexual Biology*, Columbia University Press, Nueva York.
- Hinsch, GW. 1991b. Ultrastructure of the sperm and spermatophores of the anomuran crab *Pleuroncodes planipes*. *Journal of Crustacean Biology* 11: 17-22.
- Kooda-Cisco, MJ & P Talbot. 1986. Ultrastructure and role lobster vas deferens in spermatophore formation: The proximal segment. *Journal of Morphology* 188: 91-103.
- Krol, RM, WE Hawkins & RM Overstreet. 1992. Reproductive Components. En: FW Harrison & AG Humes (eds), *Microscopic Anatomy of Invertebrates* 10: 295-344. Wiley-Liss, Nueva York.
- Malek, SRA & FM Bawad. 1974. The formation of the spermatophore in *Penaeus kerathurus* (Forskål, 1775) (Decapoda, Penaeidae). I. The initial formation of the sperm mass. *Crustaceana* 26: 273-285.
- Mann, T. 1985. Spermatophores: Development, structure, biochemical attributes and role in the transfer of spermatozoa. *Zoophysiology* 15: 133-146, Springer-Verlag, Berlin.
- Martin, GG, C Herzing & G Narimatsu. 1987. Fine structure and histochemistry of freshly extruded and hardened spermatophore of the spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *Journal of Morphology* 192: 237-247.
- Mathews, DC. 1951. The origin, development and nature of the spermatophoric mass of the spiny lobster, *Panulirus penicillatus* (Oliver). *Pacific Science* 5: 359-371.
- Mathews, DC. 1953. The development of the pedunculate spermatophore of a hermit crab, *Dardanus asper* (De Haan). *Pacific Science* 7: 255-266.
- Mathews, DC. 1954. The origin and development of the spermatophoric mass of a Nephropsid lobster, *Enoplometopus occidentalis* (Randall). *Pacific Science* 8: 115-120.
- Mathews, DC. 1956. The probable method of fertilization in terrestrial hermit crabs based on a comparative study of spermatophores. *Pacific Science* 10: 303-309.
- Mathews, DC. 1957. Further evidences of anomuran non-pedunculate spermatophores. *Pacific Science* 11: 380-385.
- Osorio, C, N Bahamonde & MT López. 1967. El limanche (*Emerita analoga*) (Stimpson) en Chile. *Boletín Museo Nacional de Historia Natural* 29: 61-116.
- Radha, T & T Subramoniam. 1985. Origin and nature of spermatophoric mass of the spiny lobster *Panulirus homarus*. *Marine Biology* 86: 13-19.
- Silberbauer, BY. 1971. The biology of the South African rock lobster *Jasus lalandii* (H. Milne-Edwards). 2. The reproductive organs, mating and fertilization. *South African Division Sea Fisheries Investigational Report* 93: 1-46.
- Spannhof, L. 1966. *Histoquímica Práctica*. Editorial Acriba, España 195 p.

- Subramoniam, T. 1977. Aspects of sexual biology of the anomuran crab *Emerita asiatica*. *Marine Biology* 43: 369-377.
- Subramoniam, T. 1981. Protandric hermaphroditism in a mole crab, *Emerita asiatica* (Decapoda: Anomura). *Biological Bulletin* 160: 161-174.
- Subramoniam, T. 1984. Spermatophoric formation in two intertidal crabs *Albunea symnista* and *Emerita asiatica* (Decapoda: Anomura). *Biological Bulletin* 166: 78-95.
- Talbot, P & D Beach. 1989. Role of vas deferens in the formation of the spermatophore of the crayfish (*Cherax*). *Journal of Crustacean Biology* 9: 9-24.
- Tudge, CC. 1991. Spermatophore diversity within and among the hermit crab families, Coenobitidae, Diogenidae, and Paguridae (Paguroidea, Anomura, Decapoda). *Biological Bulletin* 181: 238-247.

Manuscrito recibido en enero de 1997 y aceptado en septiembre de 1997.