

ANALISIS HISTOLOGICO DEL SISTEMA REPRODUCTOR
MASCULINO DE *CONCHOLEPAS CONCHOLEPA*
(BRUGUIERE, 1789)

P O R

E. GUZMAN C., M. AMIN V. y M. DELPIN A.

Departamento Biología Celular

Instituto Central de Biología

INTRODUCCION.

Los estudios anátomo-histológicos en *Concholepas concholepas* (BRUGUIERE, 1789) son escasos y haciendo extensivo el análisis bibliográfico a los prosobranquios en general, también se revela que la histología de este grupo no ha sido preocupación profunda de los investigadores (Huaiquin, 1966; Purchon, 1968; Fretter y Graham, 1962; Hyman, 1967; Young y De Martini, 1970).

Siendo las especies comestibles marinas preocupación vigente de especialistas en las costas de Perú y Chile, se ha intensificado el estudio de *C. concholepas* por sus posibilidades alimenticias. Se ha estimado que además de los estudios ecológicos que se realizan al respecto, deben hacerse análisis extensivos no sólo a la anatomía, sino a la histología, bioquímica y fisiología de representantes de este género, los que serán un eficiente complemento a los estudios señalados.

Disponiendo ya de una descripción anatómica (Huaiquin, 1966), se hace solamente una breve revisión de ella y en esta oportunidad se centran los estudios estructurales en la histología que presenta el sistema reproductor masculino de *C. concholepas*, basado en que no existen estudios histológicos en sistema reproductor de esta especie.

No cabe duda de la importancia de ir completando las descripciones histológicas de los sistemas estructurales de *C. concholepas* para realizar a posteriori una exhaustiva revisión bioquímica y fisiológica de los sistemas constituyentes.

MATERIALES.

Se emplearon especímenes de *C. concholepas* colectados en la Estación Experimental de Biología Marina de la Universidad de Concepción, Caleta Leandro, Tumbes, Bahía de Concepción, Chile (36° 38' 36" Lat. S. y 73° 05' 24" Long. W.).

De acuerdo a las informaciones existentes, el promedio de tamaño de los machos en la población estudiada de Caleta Leandro durante el período 1967-68, fue de 9.2 cm. de longitud de la concha (comunicación personal de M. T. López). Los especímenes seleccionados fluctuaron entre 9.30 y 10.40 cm. y fueron mantenidos, previo a su procesamiento, en agua de mar.

TECNICAS HISTOLOGICAS EMPLEADAS:

- A) 1.— Se fijó en formalina al 10%, por comprobarse que es el fijador que mantiene al tejido con alteraciones mínimas.
- 2.— Previa deshidratación en alcoholes de graduación ascendente, se incluyó en parafina (Merk P. F.: 56-58°).
- 3.— Se usó la tinción diferencial Hematoxilina de Mayer-Eosina. (Humasson, 1962).
- B) *Frotis*.— Para los espermios se efectuaron frotis y tinción posterior con May-Grunwald-Giemsa (Emmel and Cowdry, 1964).

Todos los reactivos usados son de procedencia Merck.

Método: Previa la colecta ya detallada, se procedió a separar de su concha el espécimen elegido y a efectuar la disección del aparato reproductor masculino. Efectuada ésta, se fijó de inmediato y se aplicó la subsecuente técnica histológica ya señalada.

DESCRIPCION MACROSCOPICA.

Efectuada la disección se pueden precisar las siguientes estructuras correlativas:

1.— *Testículo*: Se presenta como gónada impar situada en la parte posterior derecha de la masa visceral, adherido a la glándula digestiva. Es una estructura laminar elipsoide de 5 mm. de espesor aproximadamente y 30 a 35 mm. de diámetro; en su parte inferior presenta una escotadura que corresponde al hilio. Presenta color anaranjado y su consistencia es homogénea y friable.

2.— *Conducto espermático*: Desde el testículo emerge el conducto espermático por la zona hiliar, alcanzando una longitud de 60 a 90 mm. En el primer tercio, se presenta de diámetro mayor (1 mm.) y espiralado. Sus dos tercios restantes son rectos y alcanzan un diámetro de 0,5 mm.

Desde su salida de la gónada se dirige a la región anterior del espécimen atravesando la parte inferior de la masa visceral, pasando por el piso verdadero de la cavidad hasta incorporarse al pene (Huaiquin, 1966).

3.— *Próstata*: El espermioducto en su recorrido hacia el pene atraviesa la próstata, la cual es una masa glandular aplanada de 10 a 15 mm. de longitud por 5 mm. de ancho, de color blanco, poco consistente. Se ubica próxima al punto en que el espermioducto se incorpora al piso verdadero de la cavidad del manto (Huaiquin, 1966).

4.— *Pene*: Ubicado en la zona adyacente al tentáculo derecho. Es una estructura de más o menos 20 mm. de longitud, aplanado, grueso y ensanchado en su base; se agudiza y se hace cilíndrico hacia el extremo libre volviéndose filiforme (Maldonado, 1965). Como se ha descrito para otros Neogasterópodos, es un conducto, a diferencia de los prosobranquios más primitivos en que el pene es un repliegue ciliado abierto que durante la copulación forma el conducto.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO.

1.— *Testículo*: En el corte histológico se observa que el testículo está envuelto por una capa de células epiteliales planas con núcleos grandes fusiforme; en algunas zonas se observan fibras musculares lisas adosadas a este epitelio, en otras zonas, únicamente las células epiteliales. Hacia el interior podemos encontrar dos tipos de túbulos diferentes: a) Túbulos seminíferos (Lám. I, Fig. 1,a), son los más numerosos y están rodeados externamente por un epitelio plano con núcleos fusiformes (Lám. II, Fig. 1,a). En la pared del túbulo se encuentran células de forma y características diferentes: adosadas al epitelio externo y bastante espaciadas, se observan células grandes poliédricas, con abundante citoplasma con granulaciones, núcleos más o menos esféricos, centrales, con escasa cromatina granular (Lám. II, Fig. 1, b). Entre estas células se encuentra otro tipo, bastante más numerosas, de menor tamaño, muy escaso citoplasma, núcleos más o menos esféricos con abundante cromatina granular (Lám. II, Fig. 1,c). Hacia el lumen encontramos un tercer tipo de células, más pequeñas, de contornos celulares no bien definidos y con la cromatina formando grumos dispersos por toda la célula, sin que sea posible visualizar con claridad los contornos nucleares (Lám. II, Fig. 1,d). Entre éstas, y en ciertas zonas ubicadas hacia el lumen, se observan

células en las que no se visualiza citoplasma, sólo núcleos esféricos, pequeños y con cromatina muy condensada (Lám. II, Fig. 1,e). Existen otras células muy semejantes a éstas en tamaño y características, pero son piriformes (Lám. II, Fig. 1,f). Llama la atención que los dos últimos tipos descritos no se mezclan entre sí, ya que se encuentran agrupadas en zonas diferentes del túbulo.

El primer tipo de células descritas (grandes, poliédricas, con abundante citoplasma), se encuentra también hacia el lumen del túbulo seminífero, dispersas entre los demás tipos de células. En el lumen del túbulo se observa gran cantidad de espermios que han completado su histioespermioogénesis, suspendidos en una sustancia eosina positiva (Lám. II, Fig. 1,g).

b) Espermioducto prehiliar: (Lám. I, Fig. 1,b), es otro tipo de túbulo que se encuentra en el corte histológico de testículo; son menos numerosos y se observan agrupados en zonas. Externamente presentan un epitelio plano con núcleos fusiformes y adosado a este epitelio, un epitelio cúbico simple (una capa de células anisodiamétricas). En el lumen de estos túbulos se encuentra gran cantidad de espermios, sustancia amorfa eosinófila y células grandes libres, más o menos esféricas con núcleos no bien delimitados. Ambos tipos de túbulos son contorneados ya que en la preparación se observan cortes de ellos en todos sentidos. En los espacios que quedan entre los túbulos se observa tejido conjuntivo laxo y células libres que podrían ser sanguíneas.

En la región del hilio (Lám. I, Fig. 2) se encuentran de preferencia aquellos túbulos que sólo contienen espermios (Lám. I, Fig. 2,a). Estos túbulos desembocan a un conducto cuya pared está formada por un epitelio cúbico y una membrana basal (Lám. I, Fig. 2,b).

2.— *Próstata*: (Lám. I, Fig. 3). Externamente está envuelta en un epitelio columnar pseudoestratificado (Lám. I, Fig. 3,a). En él se observan células de diferentes formas y de contornos imprecisos, los núcleos se presentan a diferentes niveles y son polimorfos. Algunas células no alcanzan a la superficie del epitelio, en cambio otras son alargadas y llegan al exterior; en algunas el citoplasma es claro y homogéneo y otras presentan granulaciones.

A continuación de este epitelio se encuentran fibras musculares y tejido conjuntivo laxo (Lám. I, Fig. 3,b). Entre este tejido conjuntivo (Lám. II, Fig. 2,a) se encuentran los acinos glandulares (Lám. II, Fig. 2,b) que se presentan en cortes longitudinales, transversales y oblicuos. Estos acinos están formados por células altas con abundante citoplasma granuloso, núcleos basales, compactos y aproximadamente ovoides. En los acinos en que se observa el lumen, éste contiene una sustancia amorfa. En los espacios que deja el tejido

conjuntivo laxo y sobrepuesto en el tejido mismo, se encuentran células sanguíneas libres.

Desplazado hacia un lado de la glándula, se observa el conducto espermático que la atraviesa (Lám. II, Fig. 2,c). La pared de este conducto está formada por un epitelio pseudoestratificado. En el borde libre, las células de este epitelio presentan cilios bastante largos y está rodeado por una capa basal de tejido conjuntivo (Lám. II, Fig. 2,d). En el lumen del conducto se observan espermios.

3.— *Pene*: En su región basal (Lám. I, Fig. 4) presenta externamente un epitelio columnar simple con invaginaciones regularmente distribuidas en todo su contorno. Espaciadas entre las células columnares, existen células secretoras en forma de copa, cuyo citoplasma es una masa homogénea que presenta gran cantidad de pequeñas gotas de secreción. Sus núcleos se encuentran desplazados hacia la base o hacia las paredes laterales. Hacia el interior, inmediatamente por debajo del epitelio, presenta fibras musculares lisas dispuestas longitudinalmente y hacia el centro, haces de estas mismas fibras, pero dispuestas en forma de red, algunas longitudinales alternadas con haces transversales. Rodeando la región en que se encuentra el conducto espermático, cuya posición es más o menos central, el tejido muscular se reduce a haces aislados de fibras entre gran cantidad de tejido conjuntivo laxo. En los espacios que deja este último (Lám. I, Fig. 4,a) se encuentran vasos sanguíneos y células sanguíneas libres. La pared de estos vasos sanguíneos consta de un endotelio hacia el lumen, una capa de fibras musculares circulares y una tercera capa de fibras musculares longitudinales y circulares que se confunden con el tejido que lo rodea.

En la región en que se encuentra el conducto espermático, en el corte de esta primera porción del pene, aparecen dos lúmenes (Lám. I, Fig. 4,b), lo que indicaría que este conducto está espiralado, por lo menos en esta región, ya que en los cortes posteriores se encuentra un sólo lumen. La pared del conducto espermático está constituida por una gruesa capa de tejido muscular liso dispuesto circularmente y más compacto que el que se encuentra en el resto del órgano (Lám. I, Fig. 4,c; Lám. II, Fig. 3,a). En este corte en que se observan dos lúmenes, las gruesas paredes musculares de ambos se tocan en la zona adyacente, formando una figura semejante a un ocho. Hacia el lumen cada conducto presenta un epitelio columnar con largos cilios (Lám. II, Fig. 3,b). En el lumen mismo se ven espermios y sustancia eosinófila.

En un corte de esta misma zona basal, pero un poco más avanzado, se observa la misma constitución histológica (Lám. I, Fig. 5), con la única diferencia que el conducto espermático presenta un sólo lumen y es más o menos circular (Lám. I, Fig. 5,a).

En su parte media se observa que el pene es bastante más aplanado y de menor diámetro. Su epitelio externo presenta invaginaciones más irregulares, aunque de constitución idéntica al de la zona anterior. El tejido conjuntivo laxo de la zona interna es más escaso, haciéndose más compacto. No se observan vasos sanguíneos, sólo algunas cavidades con escasas células sanguíneas. La pared del conducto espermático en esta región es semejante a la anteriormente descrita, es algo más delgada y en partes se confunde con el resto del tejido. El epitelio interno es idéntico.

En el corte histológico de la porción terminal del pene (Lám. I, Fig. 6), se observa que su diámetro es bastante menor y circular. Posee un epitelio externo columnar semejante al de las regiones anteriores, pero sin células secretoras (Lám. II, Fig. 4,a). La zona interna presenta mayor cantidad de espacios libres y en cuanto al conducto espermático, la parte muscular de su pared es mucho más delgada, quedando reducida a 2 o 3 capas de fibras. El epitelio que da al lumen es pseudoestratificado y ciliado, con núcleos esféricos.

En la observación de un frotis de espermios, se comprobó lo descrito por Huaiquín (1966), ya que se observaron dos tipos de espermios en cuanto a su forma: un tipo con cabeza alargada y angosta y cola bastante larga. El otro tipo posee una cabeza de forma ovalada y cola más corta.

DISCUSION.

La aplicación de las técnicas histológicas señaladas ha entregado una visión general de la estructuración del aparato reproductor masculino de *C. concholepas*. Si bien es cierto que dilucida problemas de organización, plantea de inmediato interrogantes fisiológicos y bioquímicos que deben corresponder a funciones de estructuras descritas en estas observaciones. Por otra parte queda claramente establecido que existen marcadas diferencias en los prosobranquios superiores a los que pertenece *C. concholepas* con respecto a los inferiores y del análisis efectuado en ellos (Hyman, 1967), se revela sin duda como un sistema evolutivamente más perfeccionado.

De la familia Muricidae, se conocen estudios en género *Nucella* (Pourchon, 1968 y Fretter y Graham, 1962) en donde tampoco se puede distinguir externamente los sexos, ya que el pene se encuentra por detrás del tentáculo derecho y sólo se puede observar al separarlo de su concha. Con respecto al sistema reproductor mismo, Fretter y Graham (1962), describieron en *Nucella* un testículo constituido por túbulos contorneados entre lóbulos de la glándula digestiva. En *C. concholepas* ha quedado claro en este estudio que el testículo es una gónada impar y bien delimitada.

En la zona testicular hiliar se observó de preferencia aquellos túbulos que sólo contienen espermios.

Los túbulos seminíferos de *C. concholepas* presentan además un epitelio germinal plano lo que lo distingue nítidamente de la estructura similar que presenta Abalone rojo (Arqueogasteropoda) cuyo epitelio germinal es cúbico (Young y De Martini, 1970).

El conducto espermático recorre la región comprendida entre la glándula sexual y el pene, lo que también ha sido observado por Maldonado (1965).

Este conducto a la salida del testículo se ensancha y se enrolla y como en su interior se ha observado espermios en abundancia, induce a pensar, a igual que otros autores, que esta zona correspondería a la vesícula seminal (Hyman, 1967 y Pourchon, 1968).

A continuación de esta zona el conducto espermático adquiere la forma de un túbulo recto y más delgado que atraviesa la próstata.

La glándula prostática en *C. concholepas* como lo hemos descrito, se presenta como una glándula perfectamente delimitada con gran cantidad de acinos glandulares que posiblemente vacían su secreción al conducto espermático que la atraviesa; en cambio en *Nucella*, como ha informado Fretter y Graham (1962), esta glándula estaría formada por un tipo de células secretoras que se abren hacia el lumen entre células ciliadas. Estas observaciones concuerdan con lo descrito por Pourchon (1968) para Neogasterópodos en general, en que observó un vaso deferente paleal que tiene paredes glandulares y que estimó se trata de la próstata.

Ya en 1946, Fretter había descrito en algunos casos este mismo epitelio evaginado formando grupos de glándulas subepiteliales ciegas.

Los trabajos de Hyman (1967), estudiando *Pomatiopsis*, señalan la existencia de un conducto espermático con paredes alteradas para formar una próstata e incluso describe una glándula prostática separada con un conducto que se vacía al conducto espermático. Linke (1933) para litorinidos y Fretter (1946) para *Turritella*, han descrito una próstata abierta.

Como lo informado para otros grupos, el conducto espermático, una vez que abandona la próstata, continúa hasta incorporarse al pene. En los prosobranquios más primitivos el pene es un repliegue ciliado abierto que durante la copulación se cierra formando un tubo. En los Mesogasterópodos más avanzados y en los Neogasterópodos, los bordes del pliegue se han fusionado formando un vaso deferente paleal tubular permanente que penetra en el pene y se abre en el extremo (Pourchon, 1968). Esto ha sido comprobado por las observaciones realizadas en el presente trabajo ya que en *C. concholepas* (Neogasterópodo) el pene es un órgano muscular con un conducto central.

Sin embargo, entre los prosobranquios monotocárdicos existen algunas familias que no presentan pene, como por ejemplo Janthinidae, Adeorbidae, Solariidae, Turritellidae e incluso en los Viviparidae, el tentáculo derecho actúa como pene, siendo penetrado por el conducto espermático (Hyman, 1967).

Hemos señalado la presencia de células sanguíneas libres en cortes de testículo, próstata y pene; estas células fueron descritas por Ward en 1966 e identificadas como linfocíticas agranulares y granulares.

Por otra parte, desde los túbulos seminíferos hasta el conducto espermático, hemos detectado en el lumen del sistema una sustancia eosinófila, cuyo origen y objeto se desconoce; podríamos suponer que se trate de una sustancia coadyuvante a la movilidad espermática, como asimismo ser un nutriente del espermio.

Por análisis mediante frotis se determinó, a igual que Huaiquin (1966), que existen dos tipos de espermios de morfología diferente como ya hemos descrito y de acuerdo con Hyman (1967), sólo un tipo sería fértil. Este dimorfismo no tiene explicación por ahora, y debe ser motivo de estudio.

RESUMEN

Se efectúa un estudio histológico del sistema reproductor masculino de *Concholepas concholepas* (BRUGUIERE, 1789), realizando una descripción de testículo, conducto espermático, próstata y pene.

Se describe a continuación de la zona hiliar, una zona diferenciada del conducto espermático que se estima corresponde a la vesícula seminal.

Se establece la histología básica del aparato reproductor masculino de *Concholepas concholepas*.

SUMMARY

A histological study of the male reproductive system of *Concholepas concholepas* (BRUGUIERE, 1789), is made, with a description of testis, sperm duct, prostata and penis.

Following the hiliar zone, it is described a differentiated zone of the sperm duct which would correspond to the seminal vesicle.

The basic histology of the male reproductive system of *C. concholepas* is established.

BIBLIOGRAFIA

- EMMEL, VICTOR M. y COWDRY E. V.
1964 Laboratory technique in Biology and Medicine. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- FRETTER, VERA y GRAHAM, ALASTAIR
1962 British Prosobranch Mollusc. Roy. Soc. Lond.
- HUAIQUIN, MORA LAURA
1966 Anatomía de *Concholepas concholepas* (BRUGUIERE 1789). Universidad Católica de Chile. (Tesis mimeografiada).
- HUMASSON, GRETCHEN L.
1962 Animal Tissue Techniques. W. H. Freeman and Company, United States of America.
- HYMAN, LIBBIE HENRIETTA
1967 The Invertebrate Mollusca I. Mc Graw-Hill Book Company, New York, 6.
- MALDONADO, C. RICHARD
1965 Estudio macroscópico, microscópico e histoquímico de *Concholepas concholepas*. Rev. Biol. Mar. 12 (123) : 121-127.
- POURCHON, R.
1968 The Biology of the Mollusca. Pergamon Press Hungary.
- WARD EASTWOOD, PETER
1966 Estudios preliminares de la sangre del loco. Universidad de Concepción, Chile. (Tesis mimeografiada).
- YOUNG, JAMES S. y de MARTINI, JOHN D.
1970 The reproductive cycle, gonadal histology, and gametogenesis of the red Abalone, *Haliotis rufescens* (SWAINSON). California Fish and Game. 56 (4) : 298-309.

LAMINA I

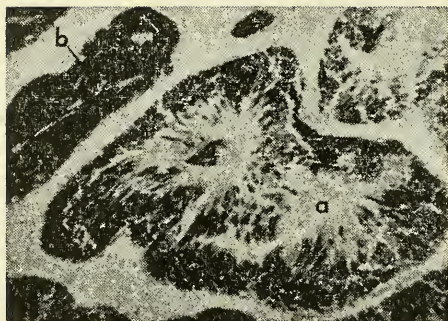


Fig. 1

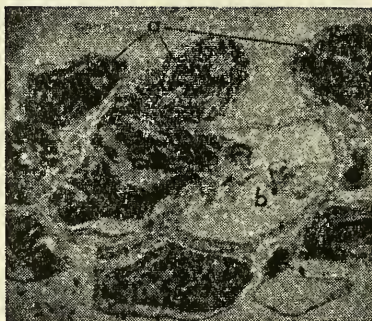


Fig. 2

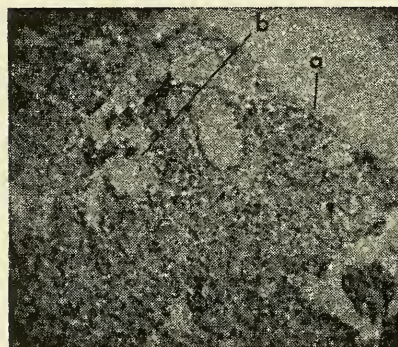


Fig. 3

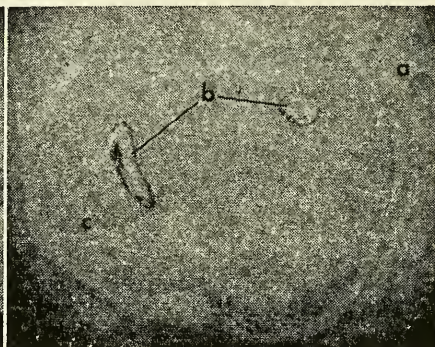


Fig. 4

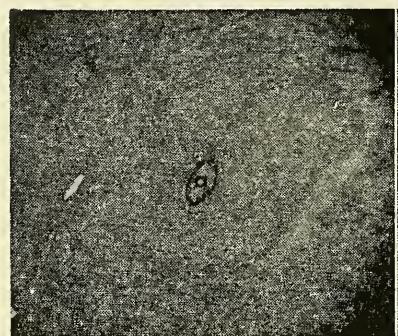


Fig. 5

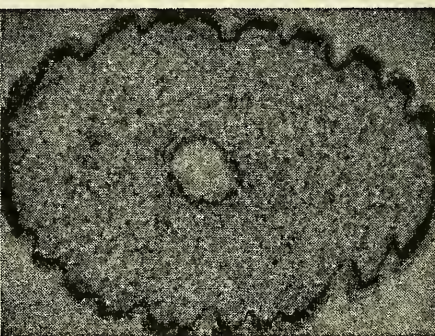


Fig. 6

- Fig. 1.— Corte de testículo. 64x. a) Túbulo seminífero; b) Espermioducto prehiliar.
 Fig. 2.— Región del hilio. 103x. a) Túbulos con espermios; b) Espermioducto hilar.
 Fig. 3.— Corte de Próstata. 103x. a) Epitelio externo; b) Tejido conjuntivo laxo.
 Fig. 4.— Corte de pene. Región basal. 103x. a) Espacios entre tejido conjuntivo laxo; b) Lúmenes del conducto espermático; c) Pared del conducto espermático.
 Fig. 5.— Corte de pene. Región basal. 103x. a) Lumen del conducto espermático.
 Fig. 6.— Corte de Pene. Región terminal. 103x.

LAMINA II

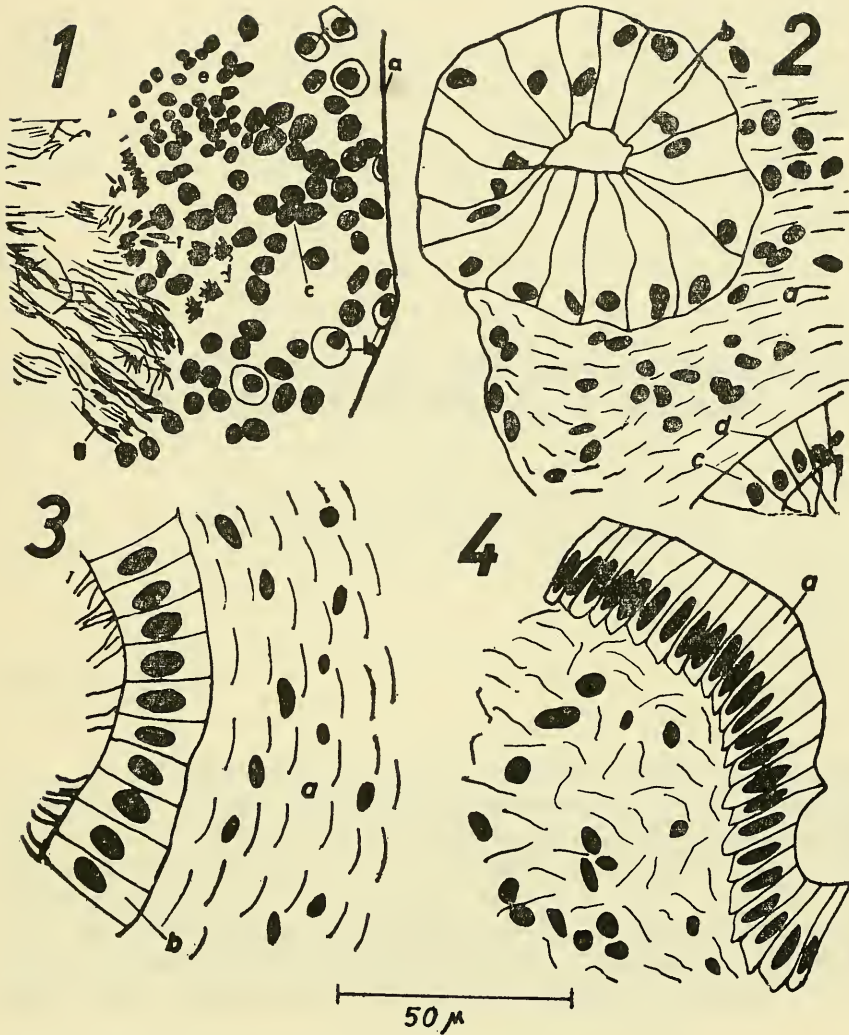


Fig. 1.—Corte de testículo. Túbulo seminífero

a) Epitelio externo

b). c), d), e) y f) Diferentes tipos de células de la pared del Túbulo seminífero

g) Espermios.

Fig. 2.—Corte de Próstata

a) Tejido conjuntivo laxo

b) Acinos glandulares

c) Pared del conducto espermático

d) Membrana basal del conducto espermático.

Fig. 3.—Corte de Pene. Región basal

a) Pared del conducto espermático

b) Epitelio columnar ciliado.

Fig. 4.—Corte de Pene. Región terminal

a) Epitelio externo.