

ESTUDIO HISTOLOGICO DEL CICLO REPRODUCTIVO DE CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS (BRUGUIERE 1789) EN PUNTA SALIENTE, COQUIMBO

P O R

SILVIA AVILES A. (*) y ELIANA LOZADA L. (*)

R E S U M E N

Se estudió la gametogénesis con el fin de establecer el ciclo de madurez sexual de *C. concholepas* a través de un estudio histológico de la gónada en ejemplares de Punta Saliente (30°00' S; 71°26' W), Bahía Herradura de Guayacán, Coquimbo. Se confeccionó una escala de madurez sexual en base a características gonádicas propias, concluyéndose que durante todo el año hay ejemplares en distintas etapas de maduración y produciéndose el desove máximo en verano.

A B S T R A C T

Gametogenesis was studied in order to determine the annual cycle of *C. concholepas* through the histological analysis of the gonad. This research was done on specimens from Punta Saliente (30°00' S; 71°26' W), Bahía Herradura de Guayacán, Coquimbo. A sexual maturity scale was worked out based on their gonadic characteristics. It was concluded that there are specimens at different stages of maturity of year around and that maximum spawning takes place in summer.

I N T R O D U C C I O N

Concholepas concholepas (Bruguiere 1789), especie que se encuentra en los fondos rocosos del litoral costero del Pacífico Sur Oriental, es un molusco gastrópodo conocido desde tiempos muy antiguos por su gran demanda en nuestras pesquerías. Schiappacasse y Niemeyer (1966:281), Montané y Bahamondes (1972:22) lo encuentran en conchales de antiguos pueblos de economía marítima.

Numerosos autores han estudiado diversos aspectos de su biología, entre ellos Carcelles 1954, Schwabe 1959, Maldonado 1965, Ward Eastwood 1966, Carmona 1970, Morán et al 1973, Gallardo 1973, Castilla 1974.

Este trabajo tiene como objetivo principal aportar mayores informaciones sobre su reproducción, especialmente en lo que se refiere a caracterización de la gametogénesis, ciclo de madurez sexual y época de mayor emisión de gametos.

(*) Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Sede Oriente, Santiago, Casilla 147.

MATERIALES Y METODOS

De muestras obtenidas para un estudio poblacional de locos (Lozada *et al*, en prensa) se tomó mensualmente una sub-muestra para el estudio del ciclo gonadal de la especie. Los locos fueron extraídos entre diciembre de 1970 y marzo de 1972 en Punta Saliente (30°00' S; 71°26' W), Bahía Herradura de Guayacán, cerca de Coquimbo.

Cada sub-muestra estuvo compuesta por un número variable de individuos (10 a 30), elegidos de tal manera que estuviera representado el máximo de tallas, las que fluctuaron de 3.1 a 13.6 cm de longitud en hembras, y de 4.1 a 11.5 cm de longitud en machos.

Para cada ejemplar se obtuvo la longitud máxima medida entre el extremo anterior de la concha, frente al canal sifonal y el extremo opuesto con un pie de metro de precisión 0.1 mm y luego el animal fue separado de la concha para extraer la gónada, las que fueron fijadas en formalina al 10% e incluidas en parafina. Los cortes histológicos de 7 μ de espesor se realizaron con un micrótomo Minot, y se tiñieron con hematoxilina-eosina y Mallory. Para las observaciones microscópicas se usó un microscopio Leitz Ortho Lux y se fotografiaron con 250 x y 100 x de aumento.

En gónadas de machos, recién extraídas, se realizaron frotis para obtener espermios.

Para conocer la variación de los estados de madurez sexual durante el año se utilizó, además, los ejemplares de la muestra destinada al estudio poblacional.

RESULTADOS

Concholepas concholepas es una especie gonocórica, es decir, de sexos separados. Machos y hembras presentan características sexuales anatómicas que permiten macroscópicamente distinguir el sexo una vez separado de su concha.

El aspecto macroscópico del aparato reproductor en ambos sexos fue realizado por Huaquín (1966:1-53).

HISTOLOGIA DE LA GONADA.

La gónada está rodeada por una envoltura, la pared gonadal, que es de grosor variable, incluso en una misma gónada. Presenta dos áreas que se distinguen con facilidad: a) Epitelio monoestratificado de células cúbicas o prismáticas de citoplasma claro, núcleos esféricos u ovoideos con escasas granulaciones. Sobre éste se observa, a veces, una sustancia amorfa y refringente, y b) Tejido conectivo con células de formas variadas, de poca afinidad tintorial y fibras colágenas, entre-

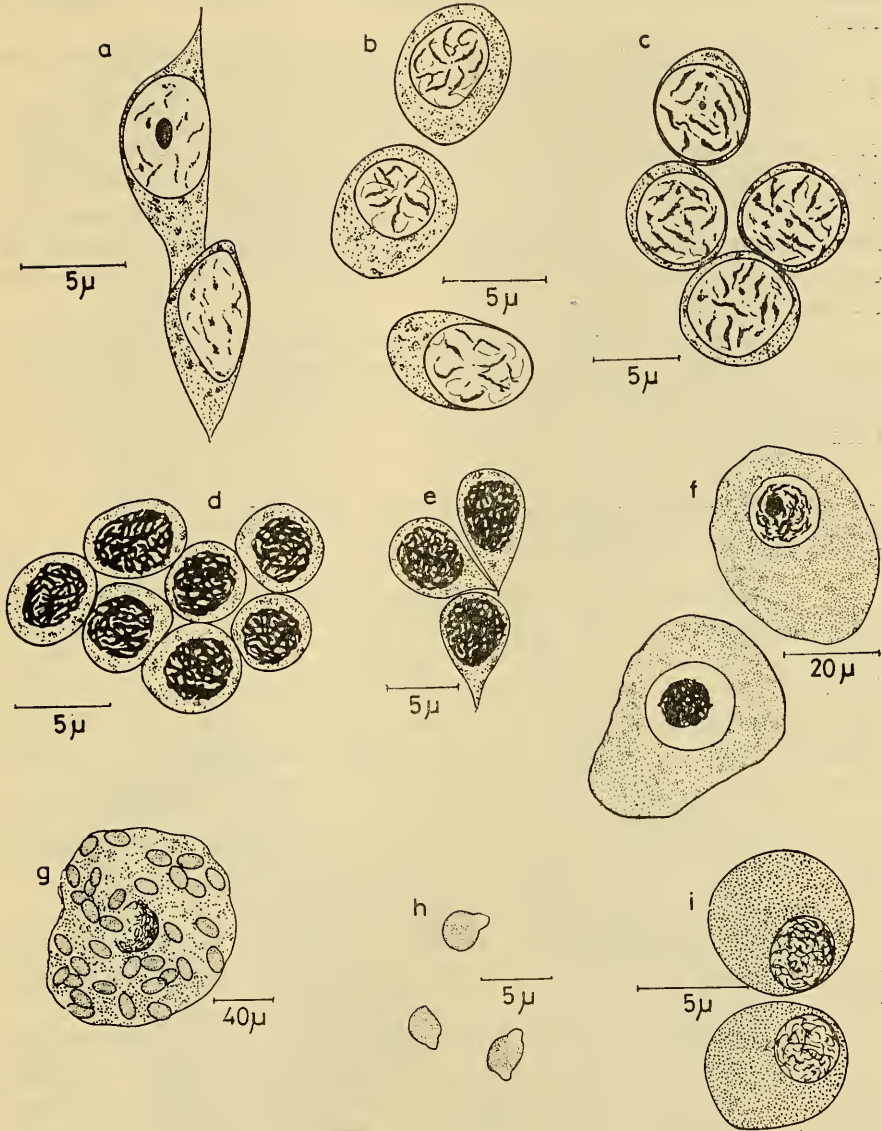


Fig. 1.—Células gametogénicas. a. células madres de gonias; b. gonias; c. espermatoцитos 1er. Orden; d. espermatoцитos 2º Orden; e. espermátidas; f. ovocitos en previtelogénesis; g. ovocitos en vitelogénesis; h. amebócitos encontrados de preferencia en hembras; i. amebócitos encontrados de preferencia en machos.

mezclada con gran cantidad de fibras musculares de diferentes longitudes, terminadas en extremos aguzados y orientadas en todas direcciones.

Inmediatamente, bajo la pared gonadal, se encuentra el estroma gonádico, constituido por tejido conjuntivo y folículos.

El tejido conjuntivo, de características muy variadas en relación con el desarrollo de la gónada, está formado por fibras colágenas y diferentes células, entre las cuales se encuentran fibroblastos, células adiposas y amebocitos; estos últimos pueden o no estar presentes según el ciclo sexual del ejemplar. Las células adiposas se encuentran, generalmente, en torno a vasos sanguíneos o a conductos de vaciamiento.

Los folículos están formados por una pared constituida por fibras y células alargadas. Hacia el interior, se desarrolla la gametogénesis caracterizada por diferentes tipos celulares en machos y en hembras.

CARACTERISTICAS DE LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES. CELULAS GAMETOGENICAS (Fig. 1).

Células madres de espermatogonias y ovogonias (1a). Ubicadas en la periferia de los folículos, adosadas a la pared en hileras. Sus formas son irregulares, más bien alargadas. Miden como promedio 12μ de diámetro oscilando entre 8 y 24μ . Tienen abundante citoplasma granuloso, núcleo con escasa cromatina, de 6μ de diámetro como promedio y, a veces, un nucléolo muy manifiesto. Su presencia es permanente y se encuentra en todos los estados.

Espermatogonias y Ovogonias (1b). De tallas más reducidas que las anteriores, miden 7μ de diámetro como promedio, oscilando entre 5 y 10μ . Presentan un núcleo vesiculoso de 4μ de diámetro promedio y un citoplasma disminuido.

Espermatocitos de 1er. Orden (1c). Células de $6,5 \mu$ de diámetro promedio, con escaso citoplasma, reducido a un anillo periférico y núcleo vesiculoso.

Espermatocitos de 2º Orden (1d). Células más pequeñas que las anteriores; como promedio miden 5μ de diámetro, oscilando entre 3 y 6μ ; el citoplasma es escaso; el núcleo presenta mayor cantidad de cromatina y más condensada que en los espermatocitos de 1er. Orden.

Espermátidas (1e). De acuerdo a la espermiogénesis, la célula va adquiriendo un aspecto piriforme con un núcleo muy denso.

Espermatozoides (Fig. 3a ♂). Se presentan en paquetes, lo que dificulta su individualización; sólo es posible distinguir cabezas baciliformes compactas y ramilletes de colas o flagelos.



Fig. 2.—Etapas del proceso de maduración de la gónada de *C. concholepas*
a. inmadurez; b. premadurez; c♂, c♀ en madurez.

Ovocitos en previtelogénesis (1f). De formas variadas, miden como promedio 42.5μ citoplasma finamente granuloso y abundante, núcleo vesiculoso de 22.6μ como promedio. Presentan nucléolos que, generalmente, están enmascarados por los cromosomas.

Ovocitos en vitelogénesis (1g). Células de gran tamaño, de 160μ de diámetro promedio, y citoplasma cargado de vitelo, el cual presenta un aspecto de gotas refringentes. En los estados de mayor maduración se observan núcleos con principio de lisis.

La mayoría de las células gametogénicas se presentan agrupadas, exceptuando las células madres de las gonias, las cuales se ordenan en hileras.

OTRAS CELULAS.

Amebocitos. Debido a su capacidad migratoria, son células que pueden encontrarse en todo el tejido gonádico. Según Lunetta (1969: 54-55), pertenecerían a elementos figurados de la sangre. Las autoras han observado amebocitos que tienen como promedio 3.6μ de diámetro, de formas irregulares debido, al parecer, a la emisión de pseudópodos y se encuentra con frecuencia en la gónada femenina (1h); otros, esféricos, de 6.6μ de diámetro medio con núcleo pequeño y desplazado a la periferia, se observan en la gónada masculina (1i). Estos últimos amebocitos experimentan cambios notables en su estructura. En general presentan un citoplasma abundante y un núcleo que se tiñe notablemente con los colorantes utilizados; con el tiempo, el citoplasma comienza a vacuolizarse, aumenta el volumen hasta producirse la ruptura de la membrana del amebocito, liberándose su contenido.

ESCALA DE MADUREZ SEXUAL (Figs. 2 y 3).

Al revisar la bibliografía existente sobre madurez sexual en diferentes invertebrados marinos, se han encontrado numerosas escalas de madurez para bivalvos, como las de Chipperfield (1953:451) y otros. Sin embargo, para el presente estudio se consideró necesario elaborar una escala que contemplará los aspectos típicos de las gónadas de este gastrópodo.

Inmadurez: Etapa previa a la gametogénesis (2a).

El análisis macro y microscópico de las gónadas no permite distinguir sexos, ya que sólo se observa abundante tejido conectivo indiferenciado, con células de formas variadas. Frecuentes en individuos iguales o menores a 5.0 cm de longitud de la concha.

Premadurez: Etapa de activa multiplicación y ordenamiento celular (2b).



Fig. 3.—Continuación etapas del proceso de maduración de la gónada. a ♂ y a ♀ madurez máxima, b ♂ y b ♀ regresión.

Macroscópicamente la gónada no se visualiza, o está representada por una membrana delgada blanca, amarilla o naranja suave. Se encuentra de preferencia en individuos cuyas tallas fluctúan entre 5 y 7 cm de longitud de la concha.

Microscópicamente, las células del tejido conectivo se ordenan para formar los folículos que, en un principio, son pequeños y de paredes gruesas. En su interior se diferencian gonios y citos I adosados a la pared folicular, observándose aún en el lumen algunas células polimorfas propias del tejido conectivo. Como consecuencia de la gametogénesis, el tejido conectivo disminuye en relación con la etapa precedente y las características estructurales de las células en gametogénesis permiten distinguir sexos. Se observa, además, conductos de vaciamiento en formación, rodeados de tejido conectivo preferentemente adiposo.

En madurez: Etapa progresiva de la gametogénesis (2c ♂-♀).

Macroscópicamente la gónada es visible; en ambos adopta de preferencia el color amarillo. Se da sobre todo en individuos de tallas iguales o superiores a 7 cm. de longitud de la concha.

Microscópicamente, los folículos tienen paredes nítidas, gruesas, separados por tejido conectivo en cantidad variable, el cual disminuye hasta quedar reducido a escasas fibras colágenas, a medida que la madurez se hace progresiva. En machos, los folículos presentan un lumen reducido y una gruesa capa germinal, formada principalmente por espermatogonias, espermatocitos I, espermatocitos II y espermátidas.

En el tejido inter- e intrafolicular aparecen los primeros amebocitos, los cuales comienzan a dividirse en numerosas partículas citoplasmáticas dejando el núcleo en libertad. En hembras, el número de ovocitos en previtelogénesis varía aproximadamente de 3 a 7 por folículos, encontrándose, de preferencia, en estados de citos I y II. En algunos se observan las primeras plaquetas vitelinas.

Madurez máxima: Etapa de espermiohistogénesis y de vitelogénesis (Fig. 3a ♂-♀).

Macroscópicamente la gónada está muy desarrollada. En ambos sexos se han intensificado los colores, adoptando diversas tonalidades de naranja.

Microscópicamente los folículos son más grandes que en la etapa precedente, de paredes nítidas y delgadas con tejido adiposo interfolicular. Gran parte de las células espermatogénicas se encuentran desprendidas de la pared folicular con predominio de espermios, los que son muy abundantes. Los amebocitos han aumentado notablemente. Los ovocitos están en plena vitelogénesis. En algunos casos, adheridos a la pared folicular se observan nuevos ovocitos en formación.

Regresión: Etapa de vaciamiento folicular (Fig. 3b ♂-♀).

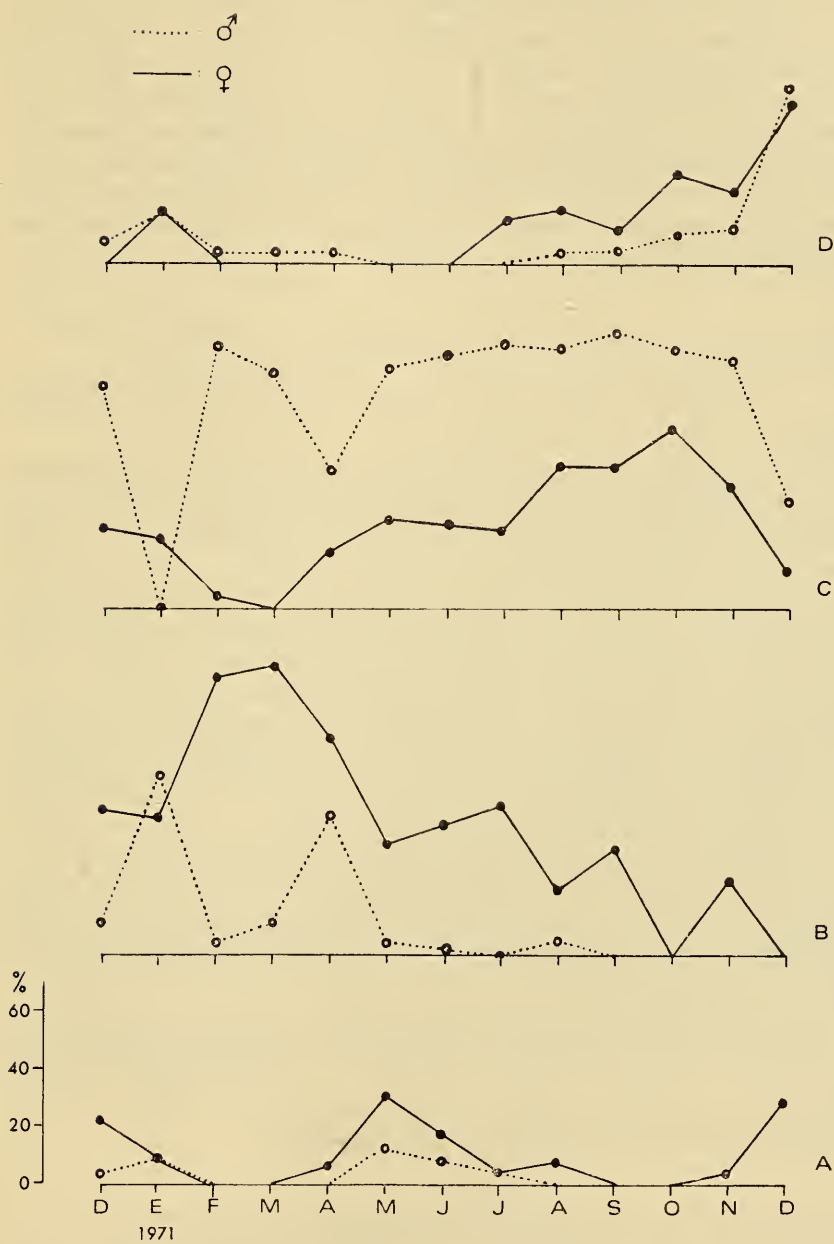


Fig. 4.—Porcentajes de individuos en diversos estados de evolución sexual en *C. concholepas*.

Macroscópicamente las gónadas están disminuidas, los colores son siempre intensos pero tendiendo al terracota.

Microscópicamente los folículos se han reducido, de paredes rugosas y otras rotas, se encuentran vacíos o semivacíos. Tejido adiposo interfolicular en cantidad variable y aumento paulatino del tejido conjuntivo propiamente tal. En machos se observan restos de espermios, espermátidas y amebocitos; otros están totalmente vacíos. En el interior de los folículos en hembras hay, preferentemente, material de desintegración, como restos de vitelo, citoplasma, núcleos y abundantes amebocitos..

FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ SEXUAL.

La escala de madurez sexual establecida fue aplicada a 325 ♀ y 288 ♂.

La frecuencia mensual de machos y hembras en los diferentes estados de madurez encontrados durante el período de muestreo fueron graficados con el fin de conocer el ciclo de reproducción y las épocas de madurez máxima de la especie (Fig. 4).

Como puede observarse, los más altos porcentajes de hembras en madurez máxima se encuentran entre agosto y octubre, decreciendo en los meses siguientes hasta llegar a cero en marzo, para aparecer nuevamente en abril. Se observa, además, que junto con el aumento del porcentaje de individuos en madurez máxima comienzan a registrarse ejemplares con la gónada en regresión con un mayor porcentaje en diciembre y ejemplares en premadurez, cuyos máximos porcentajes se obtuvieron en diciembre y mayo.

El paso de uno a otro estado de madurez en machos parece ser más rápido que en las hembras, como se observa al comparar los valores para ambos sexos en madurez máxima (4c); los machos están representados con altos porcentajes casi todo el año, con excepción de enero en que la mayor parte de los ejemplares de la muestra estaban en maduración.

Aún cuando se encuentran ejemplares en madurez máxima casi todo el año, el mayor vaciamiento gonadal se observa entre octubre y diciembre, observándose emisión de gametos entre julio-agosto y abril, es decir, en primavera, verano y parte del otoño.

CONCLUSIONES

1. Se confeccionó una escala de madurez sexual para ♂ y ♀, en base de características gonádicas propias del molusco, estableciéndose las siguientes etapas: premadurez, en madurez, madurez máxima y regresión.

2. Microscópicamente, en las gónadas de un mismo ejemplar se ven folículos en diferentes estados de madurez, indicando así que la gónada no madura uniformemente, sino que lo hace por zonas. Esto indicaría que el desove de un ejemplar sería prolongado.

Macroscópicamente, se traduce en una variedad de colores que varían entre amarillo, naranja y café, correspondiendo a los estados de mayor madurez, en ambos sexos, las tonalidades intensas.

En los machos hay predominio de tonalidades naranjas sobre las amarillas, debido a períodos de maduración frecuentes (ver Fig. 4c). En cambio, en las hembras hay predominio de tonos amarillos pálidos, lo que se explica debido a una maduración más lenta por la acumulación de reservas.

3. El grosor de la gónada no es un índice confiable para conocer su madurez. Se han encontrado ejemplares maduros, con gónadas delgadas y viceversa.

4. Durante todo el año hay ejemplares en distintas etapas de maduración. Los porcentajes de machos en madurez máxima (Fig. 4c) generalmente presentan valores muy altos, no así las hembras, las cuales van aumentando paulatinamente para culminar en octubre, descendiendo en ambos sexos en verano, época de mayor vaciamiento gonadal. Esto concuerda con observaciones realizadas por Lozada *et al* (en prensa) sobre la existencia de posturas en gran parte del año.

5.— El tejido conjuntivo varía con el estado de madurez de la gónada, siendo inversamente proporcional a la madurez máxima.

6. Se observaron dos tipos de amebocitos, unos abundantes en gónadas femeninas que cumplirían la función de fagocitar los gametos rezagados. Otros, más frecuentes en gónadas masculinas, cumplirían, además, el papel de nutrir espermátidas y espermios.

7. Las cabezas de los espermios se adosan a los amebocitos en lisis, lo que, probablemente, haya inducido a otros autores (Huaquín: Guzmán *et al*:122) a describir 2 tipos de espermios para la especie.

Los resultados de la presente investigación son válidos para el lugar, por lo que se sugiere que ellos sean continuados en otras zonas, para obtener así un conocimiento acabado del ciclo reproductivo a lo largo del país de este molusco de gran interés comercial.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a la División de Pesca (S.A.G.) por el aporte financiero que hizo posible este trabajo, a la Sra. Ester Ramírez, Médico Veterinario, por la colaboración en la realización de algunos cortes histológicos, a la Sra. Serena Mann por la confección de los esquemas presentados y a la Srta. Marta Cariceo por la transcripción dactilográfica.

BIBLIOGRAFIA

- Carcelles. 1954. Observaciones sobre los géneros *Nucella*, *Chorus* y *Concholepas*. Comun. Inst. Invest. Cienc. Nat. (Zool) B. Aires, 2(16):255-275.
- Carmona M.T. 1970. Consumo de oxígeno en relación al peso en ejemplares jóvenes de *C. concholepas* (Bruguiere) Mollusca Muricidae. Rev. Biol. Mar. Valparaíso 14(2):51-54.
- Castilla J.C. 1974. Notes on mating behaviour of *Concholepas concholepas* (Mollusca, Gastropoda, Muricidae) from Chile. The Veliger 16(3):291-292.
- Chipperfield P.N.J. 1953. Observations on the breeding and settlement of *Mytilus edulis* (L) in British waters. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 32:449-476.
- Gallardo C. 1973. Desarrollo intracapsular de *C. concholepas* (Bruguiere) (Gastropodo, Muricidae) Mus. Nac. Hist. Nat. Publ. Ocas. 16:3-16.
- Guzmán E.G.M., Amin y M. Delpin 1972. Análisis del sistema reproductor masculino de *C. concholepas* (Brug. 1789). Bol. Soc. Biol. Concepción 14:117-127.
- Huaquín L. 1966. Anatomía de *Concholepas concholepas* (Bruguiere 1789) (Gastropoda, Muricidae). Tesis Mimeografiada. Univ. Católica de Chile: 1-53.
- Lozada E., M.T. López y R. Desqueyroux. Aspectos Ecológicos de las poblaciones de loco, *Concholepas concholepas* (Bruguiere 1789) (Moll. Gaster. Muricidae). Biología Pesq. 8 en prensa.
- Lunetta, E.J. 1969. Fisiologia da reproducao dos mexilhoes (*Mytilus perna*) Fac. Filos. Cienc. Letras Univ. Sao Paulo, Bol. 324, Zool. Biol. Marina 26:33-115.
- Maldonado R. 1965. Estudio macroscópico e histoquímico de *C. concholepas* Rev. Bol. Mar. Valparaíso 12 (1, 2 y 3): 121-127.
- Morán, A.R. González y M. Puchi. 1973. Metabolismo de la fructosa 1-6 difosfato en músculo de *C. concholepas* (loco de mar). Bol. Soc. Biol. Univ. Concepción 46:103-111.
- Montané J. y R. Bahamondes. 1972. El mar, el litoral y los antecedentes arqueológicos. Rev. Estudios Pacífico 4:7-23.
- Schiappacasse F. y H. Niemeyer. 1966. Excavaciones de conchales precerámicos en el litoral de Coquimbo, Chile. (Qda. Romeral y Punta Teatinos). Rev. Universitaria. Univ. Católica de Chile (2):277-314.
- Schwabe G.H. 1959. Biometrische Daten sur Schale von *C. concholepas* (Bruguiere) (Mol. Muricidae) an der chilenischen Kuste und ihr okologischer Indickatorwert. Inter. Rev. des Hydrobiol. 44:449-462.
- Ward Eastwood, P. 1966. Estudios preliminares de la sangre del loco. Univ. de Concepción, Chile (tesis mimeografiada).