

**ANALISIS HISTOLOGICO DEL OVARIO DE  
CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS (BRUGUIERE 1789)  
(GASTROPODA : MURICIDAE) \***

Laura G. Huaquín Mora \*\*

RESUMEN

Se presenta un análisis del ovario de *Concholepas concholepas*, con especial énfasis en algunos componentes citoplasmáticos de los ovocitos en desarrollo.

El ovario está recubierto por un manto formado por un epitelio prismático simple. Bajo este epitelio hay una capa de tejido conjuntivo que origina trabéculas, las cuales segmentan al ovario en lóbulos con forma de columnas. En estas trabéculas el epitelio muestra ovogonias que evolucionan a ovocitos. Estos últimos se presentan en distintos estados de desarrollo de acuerdo a las etapas de maduración gonádica.

Los ovocitos previtelogénicos, se caracterizan por un núcleo grande y citoplasma basófilo con áreas vacuolizadas; están, además, conectados por un pedúnculo a las trabéculas del ovario.

Durante la vitelogenesis predominan los ovocitos caracterizados por un citoplasma granular, con material basófilo polarizado y por la formación de plaquetas de vitelo. Los ovocitos pueden estar libres o adheridos por pedúnculos.

Los ovocitos maduros están usualmente libres en los lóbulos y su citoplasma contiene gran cantidad de plaquetas vitelinas de diferentes tamaños, de forma ovoide y homogéneas en su contenido, aunque a veces se presentan bipartidas.

Se discute la significación citológica del material que forma los péndulos de los ovocitos previtelogénicos y las etapas en la formación de las plaquetas vitelinas.

**HISTOLOGICAL ANALYSIS OF THE OVARY IN  
CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS (BRUGUIERE 1789)  
(GASTROPODA: MURICIDAE)**

ABSTRACT

A histological analysis of the ovary of *Concholepas concholepas* is made, with special reference to some cytoplasmic components of the developing oocytes.

The ovary is lined by a mantle, made up by a simple prismatic epithelium. Underneath the epithelium there is a connective tissue layer which originates trabeculae that segment the ovary into lobules, with columnar shape. In these trabeculae, the germinal epithelium shows oogonia, that will evolve into oocytes. The latter can be seen in different steps of development according to the stage of gonadic maturity.

The previtelogenic oocytes, predominating in the gonad before yolk formation, are characterized by a large nucleus and a basophilic cytoplasm with vacuolated areas. They are connected by a pedicle to the ovarian trabeculae.

During vitelogenesis the predominating oocytes are characterized by a granular cytoplasm with a polarized basophilic material and by the formation of yolk platelets. The oocytes can be either free or attached to the pedicles.

The mature oocytes are usually free in the lobules and their cytoplasm contains large amounts of yolk platelets of different sizes, ovoid in shape, and homogeneous in their content, though sometimes they may be bipartite.

The cytological significance of the material that forms the pedicle of the previtelogenic oocytes and the different steps of platelets formation in the oocytes during vitelogenesis, are discussed.

(\*) Proyecto N° 1512/74 y 3069/75 Servicio de Desarrollo Científico y Creación Artística. Universidad de Chile.

(\*\*) Lab. de Biología. Depto. de Silvicultura. Fac. de Ciencias Forestales. Universidad de Chile. Casilla 9206. Santiago.



## INTRODUCCION

A través de las descripciones de Haller (1888), Maldonado (1965) y Huaquín (1966), se conoce la morfología de *Concholepas concholepas* en líneas generales; pero existe relativamente poca información referida a la estructura histológica de los diferentes órganos de esta especie. Se han realizado estudios histológicos del corazón (Krauskopf, 1965; Flores *et al.*, 1967); de la sangre (Flores y Ward, 1966; P. Ward, 1966; Ward y Concha, 1967) del músculo del pie (Maldonado, 1966); del aparato reproductor masculino (Guzmán *et al.*, 1972) y de gónadas (Avilés y Lozada, 1975; Ramorino, 1975). Estos dos últimos trabajos fueron hechos con el objetivo específico de determinar el ciclo

reproductivo de la especie.

En *Concholepas concholepas*, salvo las observaciones de Avilés y Lozada (1975), no se han realizado estudios sobre la diferenciación de los ovocitos, aunque son numerosos los trabajos efectuados en este aspecto en otros moluscos (Anderson 1965, 1969; Bretschneider y Raven, 1951; Taylor y Anderson, 1969).

Este trabajo pretende una mayor descripción de la histología del ovario de *Concholepas concholepas* y analizar algunos constituyentes citoplasmáticos de los ovocitos en desarrollo, por medio de cortes histológicos, correspondiendo a una etapa previa al estudio ultraestructural.

## MATERIALES Y METODOS

Se colectaron por buceo alrededor de 100 ejemplares de *Concholepas concholepas* en la localidad de Montemar -Valparaíso-, entre junio de 1973 y diciembre de 1975, obteniéndose muestras en las diferentes estaciones del año. Los ejemplares traídos a Santiago se mantenían por algunos días antes de su procesamiento en el acuario con agua circulante del Laboratorio de Zoología del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad Católica. Se hizo disecciones de ovario en animales adultos, sexados según la técnica descrita por Castilla (1974).

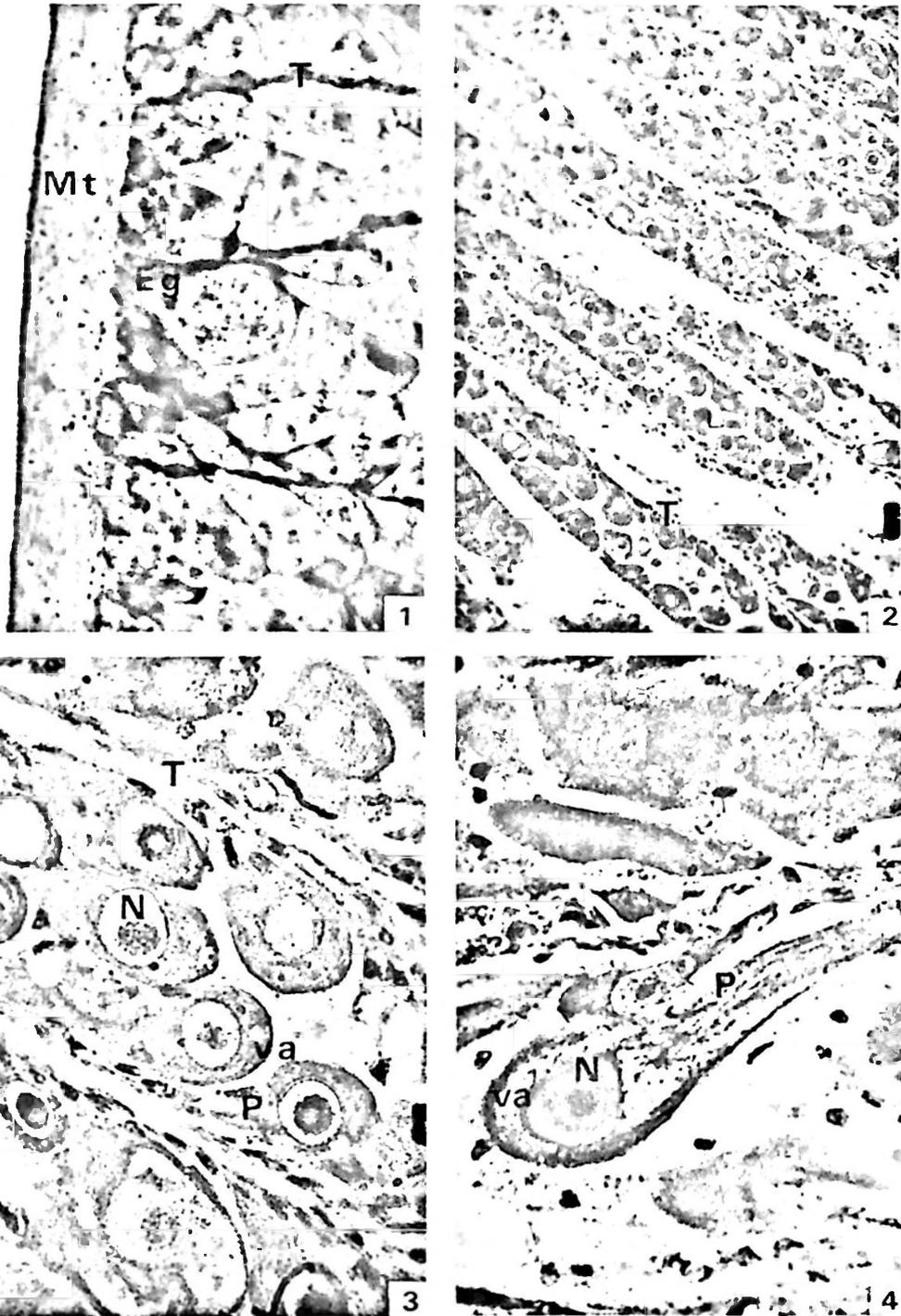
Se fijaron los ovarios en Bouin adicionado con cloruro de sodio al 30/o (Hutchings, 1973); formalina al 90/o; Carnoy; glutaraldehído al 30/o en agua de mar filtrada por Millipore (Summers, 1972) y Kamowsky, estos dos últimos, con postfijación en tetróxido de osmio. Las piezas se incluyeron en parafina y en Epon, haciéndose cortes de 7 y de 1 micrón, respectivamente. Se realizaron tinciones con métodos corrientes y con técnicas específicas para glicoproteínas (ácido peryódico-Schiff), para tejido conjuntivo (Azán), plaquetas vitelinas (OsO<sub>4</sub>) y para los cortes semifinos de un micrón se tiñó con azul de toluidina - borax al 10/o.

## RESULTADOS

El ovario está cubierto externamente por el manto (Lám. 1, Fig. 1) que corresponde en esa región a un tejido traslúcido de un espesor de más o menos 0,2 mm. El manto está formado por un epitelio prismático simple en el cual hay intercaladas células glandulares; cuando hay distensión del manto este epitelio puede verse cúbico. Por debajo del epitelio existe una capa de tejido conjuntivo denso con fibras musculares. A medida que se aleja este tejido del epitelio, se observa más laxo y desde aquí se desprenden perpendicularmente trabéculas (figs. 1, 2 y 3) que segmentan el interior del ovario originando lobulillos, los que le dan un aspecto co-

lumnar. Las trabéculas están formadas por una fina capa de tejido conjuntivo y por el epitelio germinativo; en algunos sectores se aprecian vasos sanguíneos y células adiposas. En el epitelio germinativo se ubican las ovogonias que darán origen a los ovocitos los que pueden visualizarse hacia el interior de los lobulillos en distintas etapas, según el estado de maduración de la gónada.

Para analizar el aspecto de los ovocitos que predominan en el ovario previtelogénico, en vitelogénesis y maduro, se consideró la clasificación propuesta por Ramorino (1975).



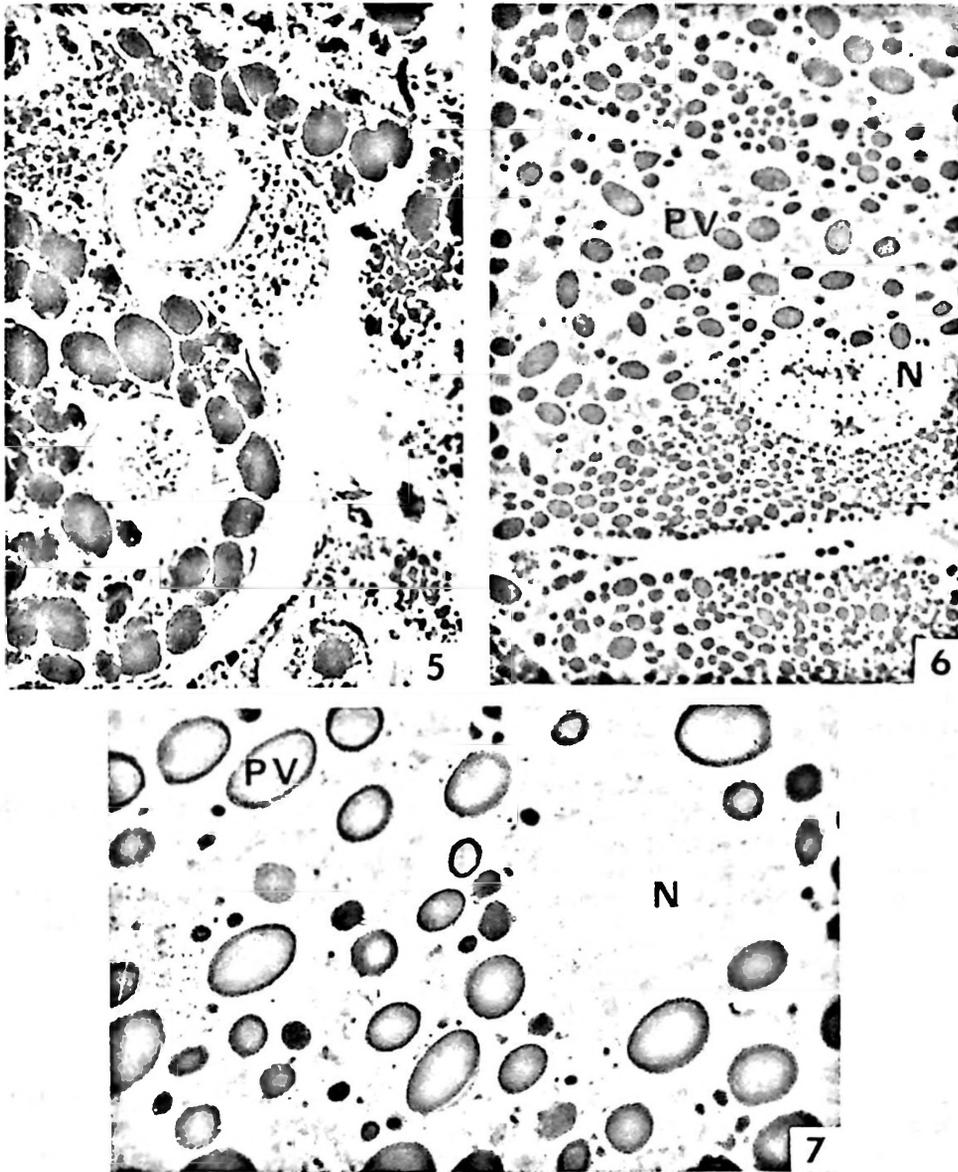
Cortes histológicos de ovarios de *Concholepas concholepas*. Hematoxilina - Eosina.

Fig. 1 Corte longitudinal de ovario maduro para mostrar la relación del manto y las trabéculas. Eg = epitelio germinativo; Mt = manto; T = trabécula. x 100.

Fig. 2 Corte longitudinal de ovario previtelogénico. T = trabécula. x 100.

Fig. 3 Ovario previtelogénico. N = núcleo; P = pedúnculo; T = trabécula; va = áreas de vacuolización. x 450.

Fig. 4 Ovocito previtelogénico. N = Núcleo; P = pedúnculo. x 1000.



Cortes histológicos de ovarios de *Concholepas concholepas*

Fig. 5 Ovario en vitelogénesis, pueden verse las granulaciones PAS +. PAS, x 450.

Fig. 6 Ovocito maduro, se observan las plaquetas vitelinas y los gránulos densos adyacentes al núcleo. Azul de Toluidina-borax. x 450.

Fig. 7 Ovocito maduro, se observa el núcleo (N), las plaquetas vitelinas (PV) y los gránulos meta-cromáticos con mayor aumento. x 1000.

#### *Ovario Previtelogénico*

Se observan los lobulillos limitados por las trabéculas originadas del manto. (figs. 2, 3). La pared de las trabéculas está formada por células alargadas (7 a 12 micrones), con núcleo alargado, basófilo y escaso citoplasma. Se ve un segundo tipo celular con núcleo más pálido, más esférico y la cromatina condensada en gránulos. Estas células corres-

ponden a las ovogonias descritas por Avilés y Lozada (1975). Además, su ubicación, aspecto y relaciones intercelulares coinciden con las descritas por J. Ward (1966) para *Fissurella barbadensis*, por Anderson (1969) en Polyplacophora y por Young y DeMartini (1970) para *Haliotis refuscens*.

Además de las células anteriormente citadas, se observan las células predominantes en esta etapa

del ovario: los ovocitos previtelogénicos (figs. 3 y 4), cuyos tamaños fluctúan entre 10 y 70 micrones, presentan un citoplasma basófilo, el núcleo es esférico u ovalado ocupando gran parte de la célula con un nucléolo central notorio. La cromatina nuclear de aspecto granular, se encuentra concentrada alrededor del nucléolo. En cortes longitudinales se pueden ver los ovocitos conectados al epitelio germinativo por medio de un pedúnculo (Fig. 4) que en este estado es muy característico, lo que les confiere un aspecto piriforme. Al microscopio óptico es posible observar que el material citoplasmático en la zona del pedúnculo está dispuesto en el sentido del eje mayor en forma de filamentos. Al teñir estos ovocitos con método de ácido peryódico-Schiff, se revela un material PAS positivo en la base del pedúnculo. También es posible observar que en partes del citoplasma y con mayor frecuencia en las áreas que enfrentan la luz del túbulo, existen zonas de vacuolización.

#### Ovario en Vitelogénesis

Los ovocitos predominantes de esta etapa (Fig. 5) aumentan de tamaño. Se desprenden de las trabéculas para llegar a ser ovocitos libres, aunque muchos todavía presentan pedúnculo. Sus formas también cambian, dejando de ser piriformes, transformándose en células ovoides; este aspecto está en relación con la pérdida del pedúnculo. Se caracterizan por presentar en su citoplasma gránulos PAS positivos e inclusiones. El núcleo es esférico con un nucléolo eosinófilo. Existen también en

menor proporción los mismos tipos celulares observados en el estado de previtelogénesis.

#### Ovario Maduro

Es difícil la buena preservación de este material con los fijadores corrientes. Es por esto que se ha empleado la técnica de fijación de Summers (1972) y la inclusión en plástico aplicadas para la observación al microscopio óptico.

Los ovocitos maduros (figs. 6 y 7) de aproximadamente 170 micrones, se encuentran libres en el interior de los lobulillos. Presentan un núcleo esférico, con la cromatina dispersa homogéneamente, a diferencia de lo observado en los ovocitos previtelogénicos. Contienen en su citoplasma gran cantidad de plaquetas vitelinas eosinófilas de contenido homogéneo, observadas en preparaciones con tinción corriente. En los preparados de un micrón teñidos con azul de toluidina es posible observar las plaquetas con más detalles. Sus diámetros varían entre 5 y 15 micrones, de forma ovoídea, con una disposición anillada en la periferia, sugiriendo que el material está dispuesto en forma concéntrica. Además se presenta, aunque con poca frecuencia, un tipo de plaqueta vitelina bipartida. Estas son semejantes a las esferas de vitelo bipartido descritos por Dumont (1969) y a los cuerpos de vitelo bipartido descritos por Taylor y Anderson (1969). También es posible observar en estos preparados gránulos densos, metacromáticos, más pequeños que las plaquetas vitelinas, dispersos en el citoplasma; pero su máxima concentración puede verse en un sector polarizado adyacente al núcleo.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Es necesario destacar que los ovocitos previtelogénicos de la mayoría de los moluscos se encuentran adheridos al epitelio germinativo del ovario por medio de un pedúnculo, confiriéndoles a esas células un aspecto piriforme. Esto se evidencia, por lo menos, en tres clases de Mollusca. Por ejemplo, en Polyplacophora, Selwood (1968) los ha descrito en *Syphaerochiton septentriones* y Anderson (1965), en *Mopalia mucosa* y *Chaetopleura apiculata*. En Bivalvia, Beams y Sekhon (1966) han estudiado la estructura fina del pedúnculo del ovocito de *Anodonta*, discutiendo, además, sobre la posible función de ese elemento. En Gastropoda, Young y DeMartini (1970), estudiaron los ovocitos primarios de *Haliotis rufescens* sujetos por un pedúnculo a las trabéculas del ovario, y Underwood (1972) sostiene que los ovocitos de *Monodonta lineata*, *Gibbula umbilicalis* y *G. cineraria*. . . "permanecen unidos a las trabéculas del ovario gran parte de su desarrollo y eventualmente forman un pedúnculo de sujeción". (traducción).

En *Concholepas concholepas* también se observa a los ovocitos previtelogénicos y en vitelogénesis adheridos a las trabéculas del ovario por medio de un pedúnculo. Situación que permite visualizar a los constituyentes citoplasmáticos distribuidos en forma polarizada. Por otro lado, se observó que el material citoplasmático en la región del pedúnculo tiene esa disposición especial, orientado respecto a su eje longitudinal. Beams y Sekhon (1966) observaron mediante microscopía electrónica en los ovocitos tempranos de *Anodonta* una disposición longitudinal de microtúbulos en la zona del pedúnculo. Esta es una estructura aparentemente adaptada para el soporte mecánico de la célula y que probablemente tiene una función de nutrición en el ovocito en crecimiento. Esto implicaría la incorporación de sustancias nutritivas desde el exterior hacia el interior del ovocito a través del pedúnculo.

Otra característica de interés necesaria de destacar en este trabajo es la observación de las plaquetas vitelinas de ovocitos en vitelogénesis y madu-

ros. Junto con ellas, se observan gránulos metacromáticos densos, los que podrían constituir los núcleos básicos de formación de las plaquetas vitelinas. Esto se sugiere, ya que algunos gránulos son heterogéneos en su contenido presentando zonas densas y zonas más claras que semejan al contenido de las plaquetas vitelinas. Con respecto a las plaquetas vitelinas bipartidas, estas son semejantes a las descritas por Dumont (1969) para el anélido *Enchytraeus albidus* y a las descritas por Taylor y Anderson (1969) para el gastrópodo *Ilyanassa obsoleta*, las cuales presumiblemente corresponden a la etapa final de formación de la plaqueta (Dumont, 1969). Es necesario correlacionar la presencia de estas plaquetas bipartidas con la etapa de

maduración del ovocito, para darle su debida interpretación funcional.

## AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que colaboraron en la realización de este trabajo. Mis reconocimientos especiales al Dr. Jorge Arrau, quien revisó el manuscrito; a la Dra. Cecilia Koenig, por sus valiosas sugerencias; al Dr. Juan C. Castilla, por las facilidades otorgadas para el transporte y mantención de los animales en el acuario del Laboratorio a su cargo; al Dr. Mario Luengo y Dr. Juan de Dios Vial, por la facilitación de los equipos de ultramicrotomía.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANDERSON, E. 1965. Events associated with differentiating oocytes in two species of amphineurans (Mollusca) *Journal of Cell. Biology* 27.
- ANDERSON, E. 1969. Oocyte cell differentiation in two species of Amphineurans (Mollusca). *Journal of Morphology* 129 : 89 - 125.
- AVILES, S. y E. LOZADA. 1975. Estudios histológicos del ciclo reproductivo de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) en Punta Saliente, Coquimbo, *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 44 : 107 - 218.
- BEAMS, H. y S. SEKHON 1966. Electron microscope studies on the oocyte of the fresh-water mussel (*Anodonta*), with special reference to the stalk and mechanism of yolk deposition. *Journal of Morphology* 119 : 477 - 501.
- BRETSCHNEIDER, L. y L.C. RAVEN. 1951. Structural and topochemical changes in the egg cells *Limnaea stagnalis* L. during oogenesis. *Archives Néerlandaises de Zoologie* 10 : 1 - 31.
- CASTILLA, J.C. 1974. Notes on Mating Behaviour of *Concholepas concholepas* (Mollusca, Gastropoda, Muricidae) from Chile. *The Veliger* 16 : 291 - 292.
- DUMONT, J. 1969. Oogenesis in the Annelid *Enchytraeus albidus* with special reference to the origin and cytochemistry of yolk. *Journal of Morphology* 129 : 317 - 344.
- FLORES, G. y P. WARD. 1966. Elementos corpusculares de la sangre de *Concholepas concholepas* (Bruguière). IX Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, Valparaíso, Diciembre 1966.
- FLORES, G.; M. KRAUSKOPF; J. CONCHA. 1967. Etude microscopique préliminaire du coeur de *Concholepas concholepas*. *Annales de Histochemie* 12 : 233 - 241.
- GUZMAN, E.; M. AMIN; M. DELPIN. 1972. Análisis histológico del sistema reproductor masculino de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 45 : 117 - 127.
- HALLER, B. 1888. Die Morphologie der Prosobranchier, gesammelt auf einer Erdumseglung durch die König italienische Korvette "Vettor Pisani". *Morphologisches Jahrbuch* 14 : 54 - 169 Lams. 3 - 8.
- HUAQUIN, L. 1966. Anatomía de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) (Gastropoda: Muricidae). Tesis de Grado. Escuela de Pedagogía, Universidad Católica de Chile. 53 p., 24 figs.
- HUTCHINGS, P.A. 1973. Gametogenesis in a Northum-berland Population of the Polychaete *Melinna cristata*. *Marine Biology* 18 (3) : 199 - 211.
- KRAUSKOPF, M. 1965. Actividad eléctrica y mecánica del corazón del loco (*Concholepas concholepas*). Tesis de Grado, Facultad de Química y Farmacia y Bioquímica, Universidad de Concepción.
- MALDONADO, C.R. 1965. Estudio macroscópico, microscópico e histoquímico de *Concholepas concholepas* *Revista de Biología Marina Valparaíso* 12 (1 - 3) : 121 - 127, 6 lams.
- MALDONADO, C.R. 1966. Studio al microscopio elettronico del muscolo liscio del piede del *Concholepas concholepas*. *Accademie Nazionale dei Lincei. Rendiconti della Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali*, Ser. 8, 40 (4) : 692 - 292, Tav. 1 - 3.
- RAMORINO, L. 1975. Ciclo reproductivo de *Concholepas concholepas* en la zona de Valparaíso. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 15 (2) : 149 - 177.
- SELWOOD, L. 1968. Interrelationships between developing oocytes and ovarian tissues in the chiton *Syphacochiton septentriones* (Ashby) (Mollusca, Polyplacophora) *Journal of Morphology* 125 : 71-104.
- SUMMERS, R. 1972. An ultrastructural study of the spermatozoon of *Eudendrium ramosum*. *Zeitschrift für Zellforschung* 132 : 147 - 166.
- TAYLOR, G. y E. ANDERSON. 1969. Cytochemical and fine structural analysis of Oogenesis in the Gastropod *Ilyanassa obsoleta*. *Journal of Morphology* 129 : 211 - 248.
- UNDERWOOD, A.J. 1972. Observations on the Reproductive Cycles of *Monodonta lineata*, *Gibbula umbilicalis* and *G. cineraria*. *Marine Biology* 17 : 333 - 340.
- WARD, J. 1966. The breeding cycle of the keyhole limpet *Fissurella barbadensis* Gmelin. *Bulletin of Marine Science* 16 (4) : 685 - 695.
- WARD, P. 1966. Estudios preliminares de la sangre del loco (*Concholepas concholepas*) (Resumen) IX Reunión Sociedad de Biología de Chile, Valparaíso, Diciembre 1966.
- WARD, P. y J. CONCHA. 1967. Estudios preliminares de la sangre del loco (*Concholepas concholepas*) (Resumen) X Reunión Sociedad de Biología de Chile, Noviembre 1967.
- YOUNG, J. y J. DEMARTINI. 1970. The reproductive cycle, gonadal histology and gametogenesis of the red abalone, *Haliotis rufescens* (Swainson). *California Fish and Game* 56 (4) : 298 - 309.

