



Primer Congreso Virtual de Ciencias Morfológicas.

Primera Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal.

## HISTOLOGIA DEL CTENIDIO DE POMACEA BRIDGESII (GASTROPODA, PROSOBRANQUIA)

**Cruz López ME<sup>1</sup>, Benzi OJ<sup>2</sup>, Valdez IC<sup>3</sup>**

1-Jefe de Trabajos Prácticos - Cát. Histología Animal –Fac. Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán– Argentina

2-Docente 2da. categoría – Cát. Histología Animal –Fac. Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán– Argentina

3-Docente 1ra. categoría - Cát. Histología Animal –Fac. Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán– Argentina

[Mecruz53@hotmail.com](mailto:Mecruz53@hotmail.com)

### RESUMEN

*P. bridgesii*, especie dulceacuícola, presenta doble juego respiratorio: ctenidios o branquias y pulmones. Se describe la histología del ctenidio de *P. bridgesii* aportando conocimientos para futuros estudios de alteraciones ecotoxicológicas. Las muestras se procesaron según la técnica histológica de rutina para microscopía fotónica. El ctenidio es un listón monopectinado formado por lamelas. La base ctenidial está constituida por un epitelio simple con células cúbicas a columnares y células mucosas. Subyacente al epitelio se dispone una delgada capa muscular inmersa en tejido conectivo laxo con abundantes lagunas hemolinfáticas. Las lamelas tienen un revestimiento epitelial simple que por las características de sus células permiten diferenciar tres zonas: apical, subapical y medio-basal, siendo la primera la más amplia. En la apical, se distinguen células columnares concilias cortas y células mucosas. La zona subapical presenta células columnares semejantes a las descritas pero con cilias más largas y escasos mucocitos. En la región medio-basal, de mayor longitud, el epitelio exhibe células carentes de cilias, columnares a cúbicas y células secretoras de mucinas. Un núcleo conectivo laxo con numerosas lagunas hemolinfáticas ocupa el interior de la lamela. Estas lagunas están separadas por extensiones de tejido conectivo a modo de trabéculas. Hacia ambos lados de la lamela muy próximas al epitelio se observan fibras musculares dispuestas longitudinalmente que se proyectan hacia las trabéculas. La branquia evidencia un alto grado de especialización para realizar con eficacia el intercambio gaseoso. Las secreciones mucosas forman una película que protegería de la invasión de agentes patógenos y sustancias tóxicas.

**PALABRAS CLAVE:** *Pomaceabridgesii*, respiración, histología, ctenidio.

## INTRODUCCION

Los ampuláridos, grupo dentro de los cuales se incluye la especie en estudio, presentan órganos respiratorios: primarios representados por ctenidios o branquias y pulmones, y secundarios o accesorios como el lóbulo nual izquierdo o sifón y la epitenia.

Debido a la evolución de este grupo de prosobranquios se observan cambios radicales tanto en la estructura de la branquia como en la circulación de agua. En los mismos como resultado de la torsión de la masa visceral ha desaparecido la branquia derecha y, a excepción de algunas especies, perdura la izquierda. Esta branquia, que ha perdido su condición bipectinada, solamente tiene desarrollados los filamentos de un lado del eje, habiendo desaparecido los del lado opuesto.

*Pomaceabridgesii*, conocida comúnmente como caracol manzana albino, se distribuye naturalmente en el Amazonas Peruano y Brasileño (1 y 2) y es una especie exótica en nuestro país donde ha sido introducida con fines comerciales. Esta especie es utilizada como mascota de acuarios, y solo ha sido observada en nuestro país en cautiverio (3).

Por su condición de vida anfibia presenta un doble juego respiratorio: la branquia o ctenidio que le permite respirar mientras el animal está sumergido y el pulmón o saco pulmonar cuando permanece fuera del agua (4).

El ctenidio está revestido por distintos tipos celulares entre ellos células mucosas. La secreción de éstas representa la primera línea de defensa y se ha demostrado que permite disminuir la exposición al estrés ocasionado por contaminantes. De igual manera interviene en el transporte selectivo de iones (5) y actúa como barrera de difusión (6), por lo que es un importante componente de la inmunidad innata.

A estos moluscos se los considera excelentes indicadores de contaminación de metales pesados por sus hábitos sedentarios, longevidad, por ser resistentes a variaciones y por su fácil obtención (7).

## OBJETIVO

En el marco de futuros estudios toxicológicos, se propone a *Pomaceabridgesii* como modelo experimental, por lo que este trabajo describe la histología normal del

ctenidio, uno de los órganos involucrados en la captación de agentes contaminantes.

## **MATERIAL Y METODO**

Muestras de ctenidios obtenidas de especímenes capturados en acuarios particulares se procesaron con la técnica histológica de rutina para microscopía fotónica. Las mismas se fijaron en formol bufferado (Formol 10% en buffer fosfato) e incluyeron en paraplast. Los cortes de 3  $\mu\text{m}$  se colorearon con Hematoxilina-Eosina (H-E) como tinción de referencia. Para la caracterización de glicoconjugados neutros (glicoproteínas, mucoproteínas y proteoglicanos neutros) se usó Acido Periódico-Schiff (PAS). Glicosaminoglicanos y proteoglicanos ácidos se identificaron con Azul Alcian (AB) a pH 2.5 y 0.5. Los resultados obtenidos con AB 0.5, reacción que pone de manifiesto sulfomucinas, se corroboraron con Azul de Toluidina (TB) a pH 5.6. Al ser un colorante metacromático se tuvo en cuenta el espectro de absorción: alfa, beta y gama (8, 9, 10).

## **RESULTADOS**

El ctenidio es un listón monopectinado, proyectado a partir de la pared del manto y formado por lamelas o laminillas suspendidas como extensiones digitiformes en la cavidad paleal. Las primeras lamelas, cercanas al saco pulmonar son cortas. En regiones distales al mismo se alternan tres lamelas largas con una corta. Este patrón de distribución se establece en toda la región distal (Fig.1).

La base del órgano corresponde a la pared del manto y está constituida por un revestimiento epitelial simple con células cúbicas a columnares y células secretoras mucosas acidófilas con gránulos basófilos, alcianófilos a pH 2.5 y 0.5 y gamma metacromáticas (Fig.2b). Algunas células secretoras exhiben contenidos mixtos periodato-reactivos y alcianófilos a ambos pH

Subyacente al epitelio se dispone una delgada capa muscular inmersa en tejido conectivo laxo con abundantes lagunas hemolinfáticas (Fig.2a).

Las lamelas cortas y largas tienen un epitelio simple que por las características de sus células permiten diferenciar tres zonas: apical, subapical y medio-basal (Fig.3). En la región apical, más amplia en ambos tipos de lamelas, se distinguen células columnares acidófilas con núcleos elípticos mediobasales y cilias cortas y células secretoras mucosas con citoplasma eosinófilo y granulaciones basófilas (Fig.4). Son escasas las células secretoras con contenidos periodato-reactivos y

alcianófilas a pH 2.5 y abundantes son las células secretoras alcianófilas a pH. 0.5 y gamma metacromáticas (Fig.5). Los contenidos mixtos en algunas células evidencian la elaboración de carbohidratos de distinta naturaleza.

La zona subapical (de mayor extensión en las lamelas cortas) presenta células columnares acidófilas con vacuolas en la región supranuclear y cilias más largas que en la región precedente. Escasas son las células mucosas de esta zona con las mismas características citológicas e histoquímicas que la región apical (Fig.6).

En la región medio-basal, de mayor longitud en las lamelas largas, el epitelio de revestimiento exhibe células acidófilas caracterizadas por la presencia de vacuolas en el citoplasma apical. Estas células, carentes de cilias, varían de columnares a cúbicas determinando una superficie irregular. Completan la estructura de este epitelio escasas células mucosas con contenidos glucídicos neutros y ácidos (Fig.7).

Un núcleo de tejido conectivo laxo proveniente de la pared del manto, ocupa el interior de las lamelas. Numerosas lagunas hemolinfáticas, carentes de endotelio, recorren toda la longitud de la lamela siendo más amplias en la región apical. Estos espacios o lagunas están separadas por extensiones de tejido conectivo a modo de trabéculas. Hacia ambos lados de la lamela, muy próximas al epitelio, se observan fibras musculares dispuestas longitudinalmente formando una delgada capa que aumenta de espesor en la región apical. Fibras musculares se proyectan hacia las trabéculas.

## DISCUSION

En la actualidad son numerosos los estudios realizados en branquias de moluscos, principalmente en bivalvos marinos. En especies dulceacuícolas es escasa la bibliografía sobre estos órganos respiratorios (11, 12, 13, 14, 15).

A la luz de nuestras observaciones la configuración histológica del ctenidio de *P. bridgesii* similar a las de otros moluscos. La presencia de lamelas con: revestimiento epitelial con células ciliadas, no ciliadas y secretoras de mucinas y núcleo conectivo con abundantes lagunas hemolinfáticas y fibras musculares es un patrón observado en este grupo taxonómico (16, 17, 18, 19, 20, 21).

Las células no ciliadas columnares y cúbicas de la región medio-basal corresponden según (22) a células absorptivas con microvellosidades y vesículas pinocíticas.

Los movimientos ciliares y las contracciones musculares ocasionan corrientes de agua que permiten la oxigenación de la misma. Asimismo las cilias participan en el transporte de las secreciones mucosas con partículas extrañas, depurando la branquia (23).

(24) sostienen que en moluscos, los productos sintetizados por los mucocitos se combinan para producir un moco multifuncional. Por los resultados obtenidos de la especie en estudio, se coincide con lo informado por este autor. A diferencia de otras especies, el revestimiento ctenidial de *P. bridgesii* sintetiza principalmente sulfomucinas.

La abundancia de lagunas hemolinfáticas, adosadas a la base del revestimiento epitelial es una característica relevante en la función respiratoria. Estas lagunas o senos carecen de revestimiento endotelial. La presencia de núcleos aplanados alrededor de la luz lagunar corresponde a fibrocitos del conectivo dispuestos de tal manera que semejan células endoteliales. Esta hipótesis fue propuesta por (25) y confirmada posteriormente mediante estudios con microscopía electrónica por (11). Según este último autor estos fibrocitos, denominados también "células trabeculares", presentan largos procesos citoplásmicos, miofilamentos finos y gruesos en el citoplasma y placas densas en la membrana celular que permiten la inserción de los miofilamentos. En relación a estas características estas células contráctiles regulan el flujo hemolinfático.

## CONCLUSIONES

El plegamiento del ctenidio en estructuras digitiformes o lamelas, aumenta la superficie branquial incrementando el área de contacto con el agua. Esta característica permite al órgano cumplir con eficacia sus funciones.

Las secreciones de las células mucosas se combinan para formar una película que protege de la invasión de partículas extrañas y agentes contaminantes.

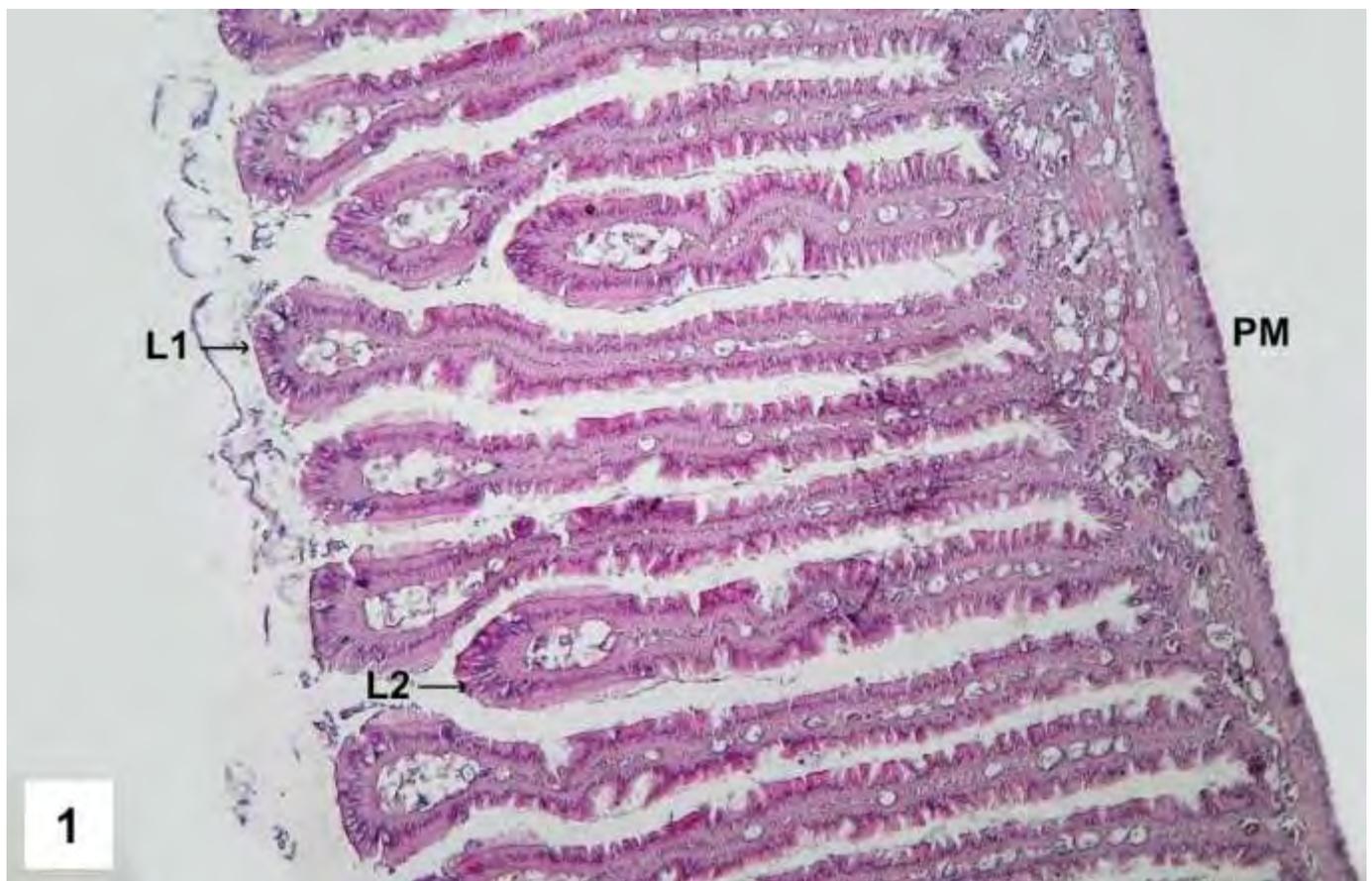
Estas secreciones participan en la formación de una barrera selectiva hemodinámica entre el agua y el medio interno.

## BIBLIOGRAFIA

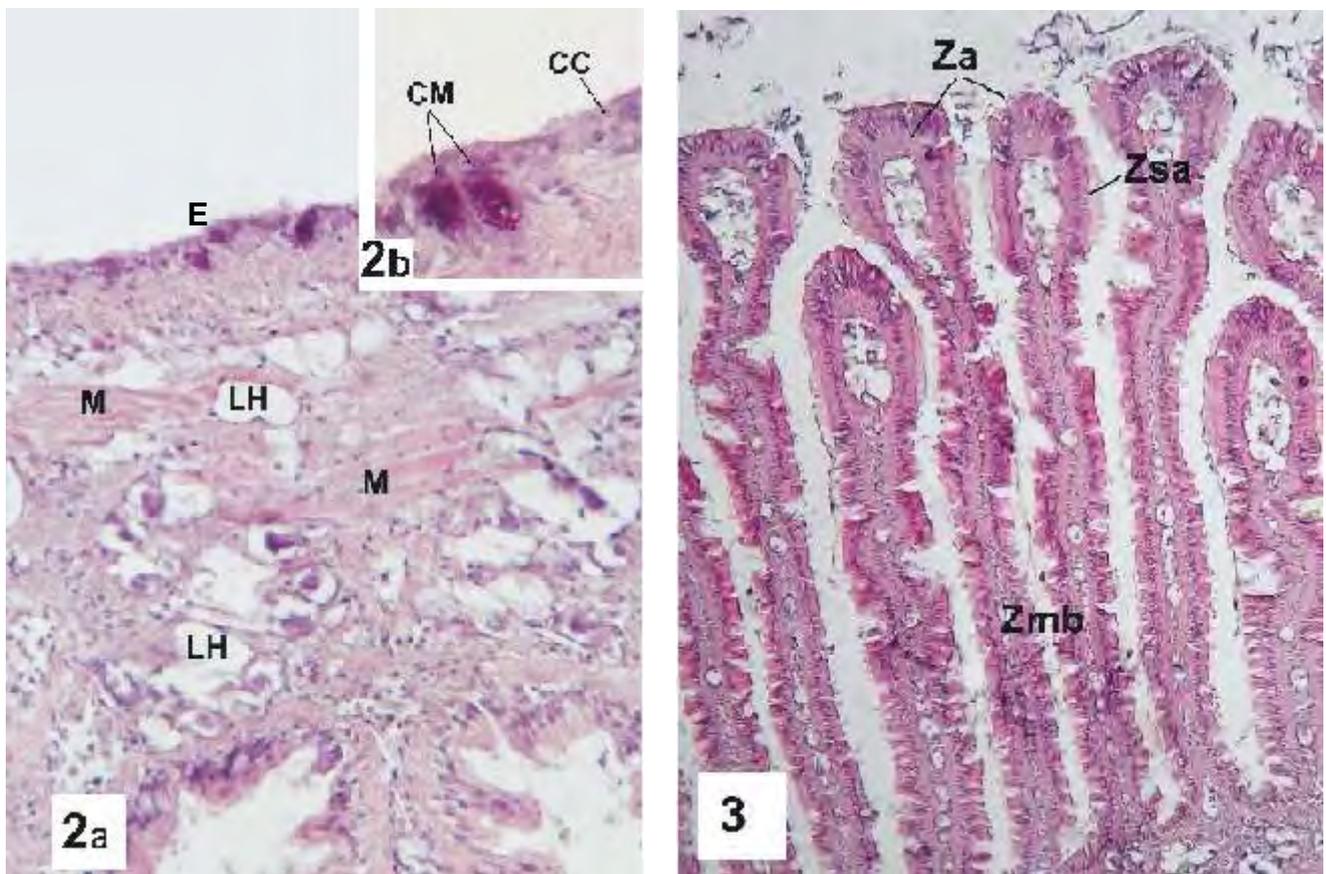
1. Perera G. y J.G. Walls. 1996. Apple snail in the Aquarium. T. F. H. Publications, INC., Neptune City, New Jersey. 121 pp.
2. Letelier V.S., L.A. Ramos y M.L.G. Huaquin. 2007. Moluscos dulceacuícolas exóticos de Chile. Revista Mexicana de Biodiversidad. 78: 95-135.
3. Valdez I.C. 2012. Variaciones estacionales de la gónada femenina de una especie exótica *Pomacea bridgesii*: un análisis histológico. Tesina de grado. Licenciatura en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Naturales e IML. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

4. Hylton Scott M. I. 1957. Studio morfológico y taxonómico de los ampuláridos de la República Argentina. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales. Ciencias Zoológicas. 3 (5): 233-333.
5. Ahn H.Y., M.A.JKH, C.A.Pinkstalf, D.O.Overman y C.J. Malanga. 1988. Synthesis and secretion of mucous glycoprotein by the gill of *Mytilus edulis*. Histochemical and chromatographic analysis of (14C) glucosamine bioincorporation. Biochimica et Biophysica Acta 966: 122-132.
6. Grimm-Jergensen Y., M.E Ducor y J. Piscatelli. 1986. Surface mucus production in gastropods is dependent on environmental salinity and humidity. Comp. Biochem. Phys. A. 83: 415-419.
7. Ramirez R., C. Paredes y J. Arenas. 2003. Moluscos del Perú. Revista Biológica Tropical. 51(3): 225-284.
8. Pearse E. 1960. Histoquímica Teórica y Aplicada. Edit. Aguilar. Madrid, 597 pp.
9. Barka T. y P.J. Anderson. 1965. Histochemistry Theory, Practice and Bibliography. Hoeber Medical Division: Harper Row, Publishers, Inc and New York, Evanston and London, 660 pp.
10. Humason G. 1979. Animal Tissue Techniques. Edit. Com. WH. Freeman and Company, 4ta. Ed. 661 pp.
11. Nakao T. 1975. The fine structure and innervations of gill lamellae in *Anodonta*. Cell. Tiss. Res. 157: 239-254.
12. Kraemer L.R. 1977. Aspects of the functional morphology of the mantle/shell and mantle/gill complex of *Corbicula* (Bivalva: Aphaeriacea). Bull. Amer. Malacol. Union: 25-31
13. Kraemer L.R. 1983. Ontogenetic aspects of biflagellate sperm in *Corbicula fluminea* (Müller) (Bivalvia: Sphaeriacea). Trans. Am. Microsci. Soc. 102: 88.
14. Way C.M., D.J. Hornbach, T. Deneka y R.A. Whitehead. 1989. A description of the ultrastructure of the gills of freshwater bivalves, including a new structure, the frontal cirrus. Can. J. Zool. 67: 357-362.
15. Pandey A. y J.S. Datta Munshi. 1991. Respiratory metabolism and scanning electron microscopy of the gills of freshwater riverine mussel *Parreysia favidens*. J. freshwater Biol. 3 (1): 65-70.
16. Lemaire-Gony S. y A. Boudou. 1997. Mantle and gill fine structure in the freshwater Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller). Annals Limnol. 33 (3): 163-178.

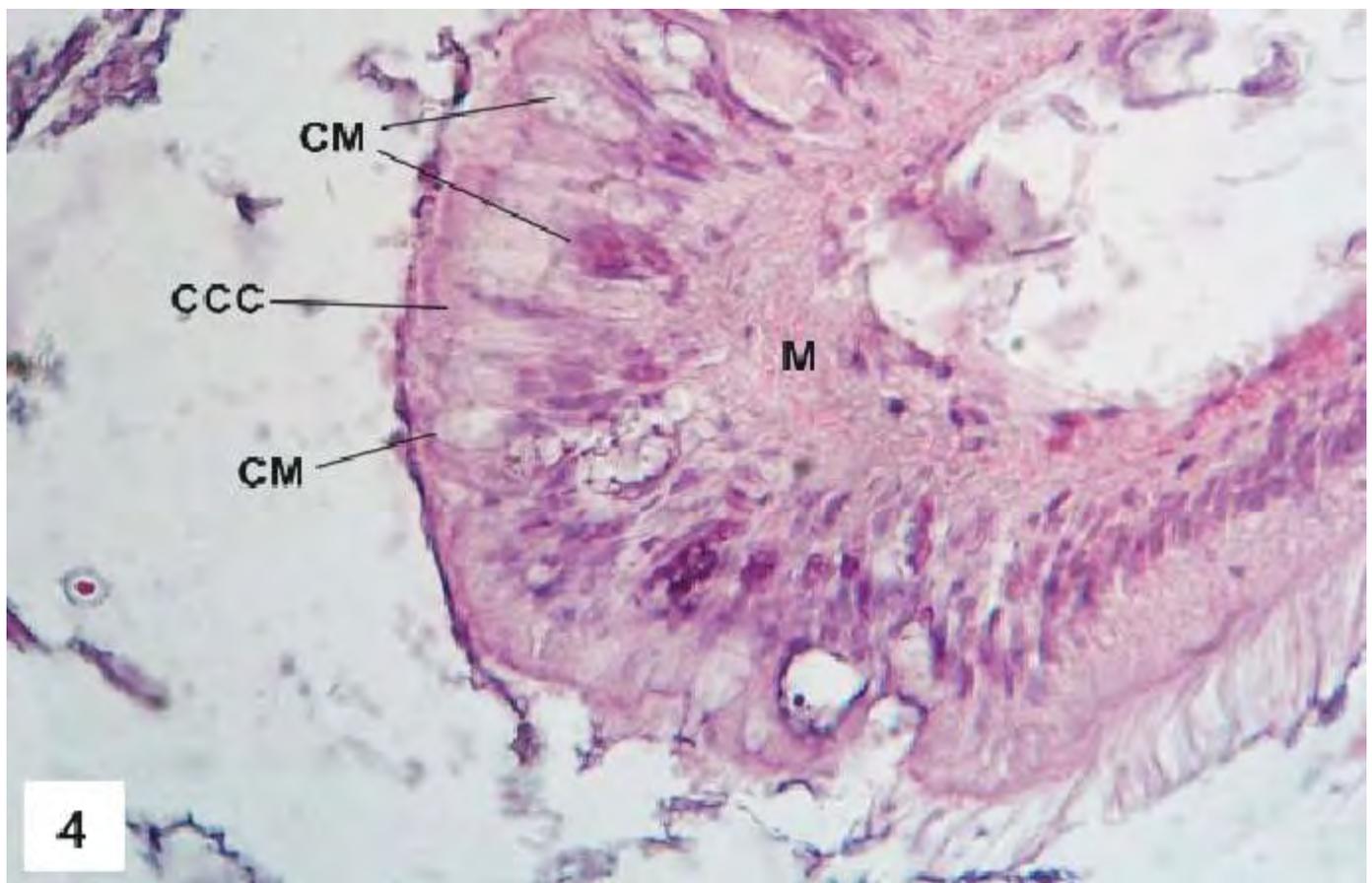
17. Beninger P.G., M. Le Pennec y M. Salaün. 1988. New observations of the gills of *Placopecten magellanicus* (Molusca: Bivalvia) and applications for nutrition. I. General anatomy and surface microanatomy. Mar. Biol. 98(1): 61-70.
18. Fiala-Medioni A. y C. Métivier. 1986. Ultrastructure of the gill of the hydrothermal vent bivalve *Calyptogenamagnifica* with a discussion of its nutrition. Mar. Biol. 90: 215-222
19. Fiala-Medioni A., C. Métivier, A. Herry y M. Le Pennec. 1986. Ultrastructure of the gill of the hydrothermal vent bivalve mytilid *Bathymodiolus* sp. Mar. Biol. 92: 65-72.
20. Dufour S. 2005. Gill anatomy and evolution of symbiosis in the bivalve family Thyasiridae. Biol. Bull. 208: 200-212.
21. Beninger P.C. y P. Decottignies. 2008. Worth a second look: Gill structure in *Hemipecten forbesianus* (Adam & Revue, 1849) and taxonomic implications for the Pectinidae. J. Mollus. Stud. 74: 137-142.
22. Oliveira David J.A., R.B. Salaroli y C.S. Fontanetti. 2008. Fine structure of *Mytella falcata* (Bivalva). Micron 39 (3): 329-336.
23. Manganaro M., L. Rosauria, M.C. Guevara, G. Lanteri, D. Zaccone y F. Marino. 2011. The morphology of gills of *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758). Acta zoologica (Stockholm) 00: 1-8.
24. Shirbhte R. y A. Cook. 1987. Pedal and opecular secretory glands of *Pomatias*, *Bthynia* and *Littorina*. J. Mollus. Stud. 53: 79-96.
25. Lufty R. G. y E. S. Demian. 1965. The histology of the respiratory organs of *Marisa cornuarietis* (L.). Arkiv För Zoologi. 18 (5): 51-71.



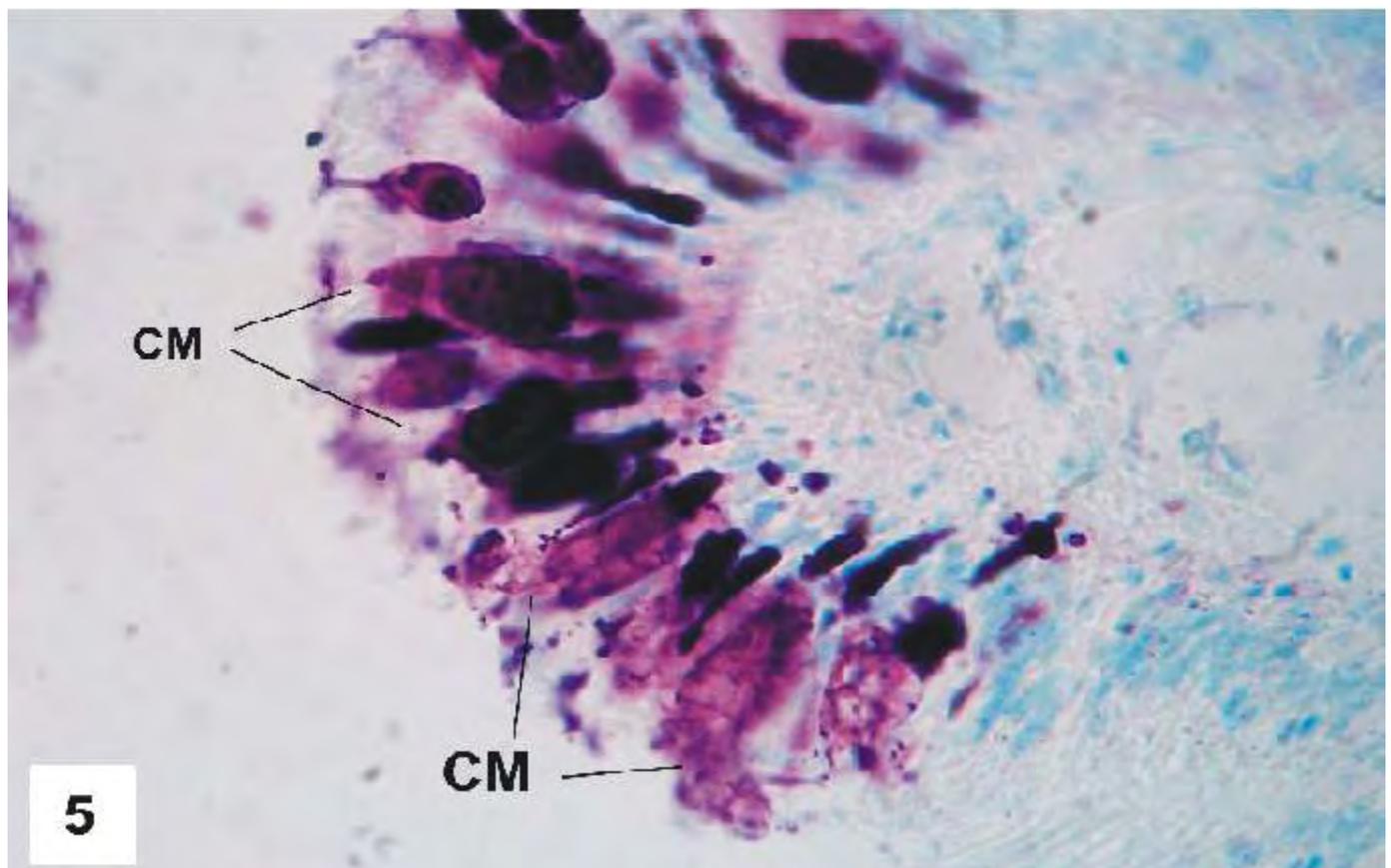
**Fig.1.** Vista panorámica del ctenidio: PM (pared del manto), L1 (lamela larga), L2 (lamela corta). H-E 4X



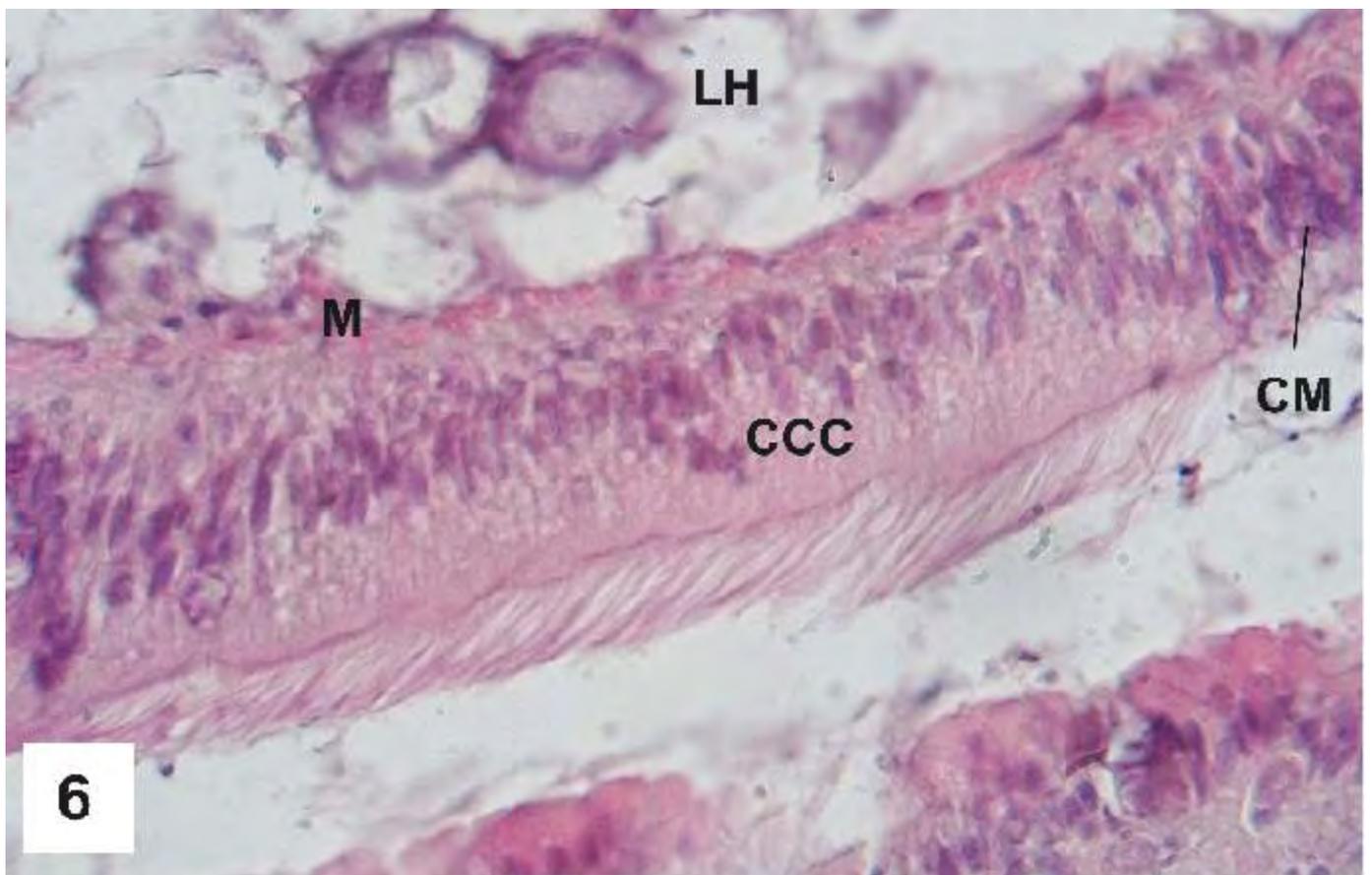
**Fig.2.** Base ctenidial. 2a: E (epitelio), LH (lagunas hemolinfáticas), M (fibra muscular) H-E10X  
 2b: CM (célula mucosa), CC (célula cúbica) H-E 40X.  
**Fig.3.** Zonas lamelares: Za (zona apical), Zsa (zona subapical), Zmb (zona mediobasal). H-E 4X



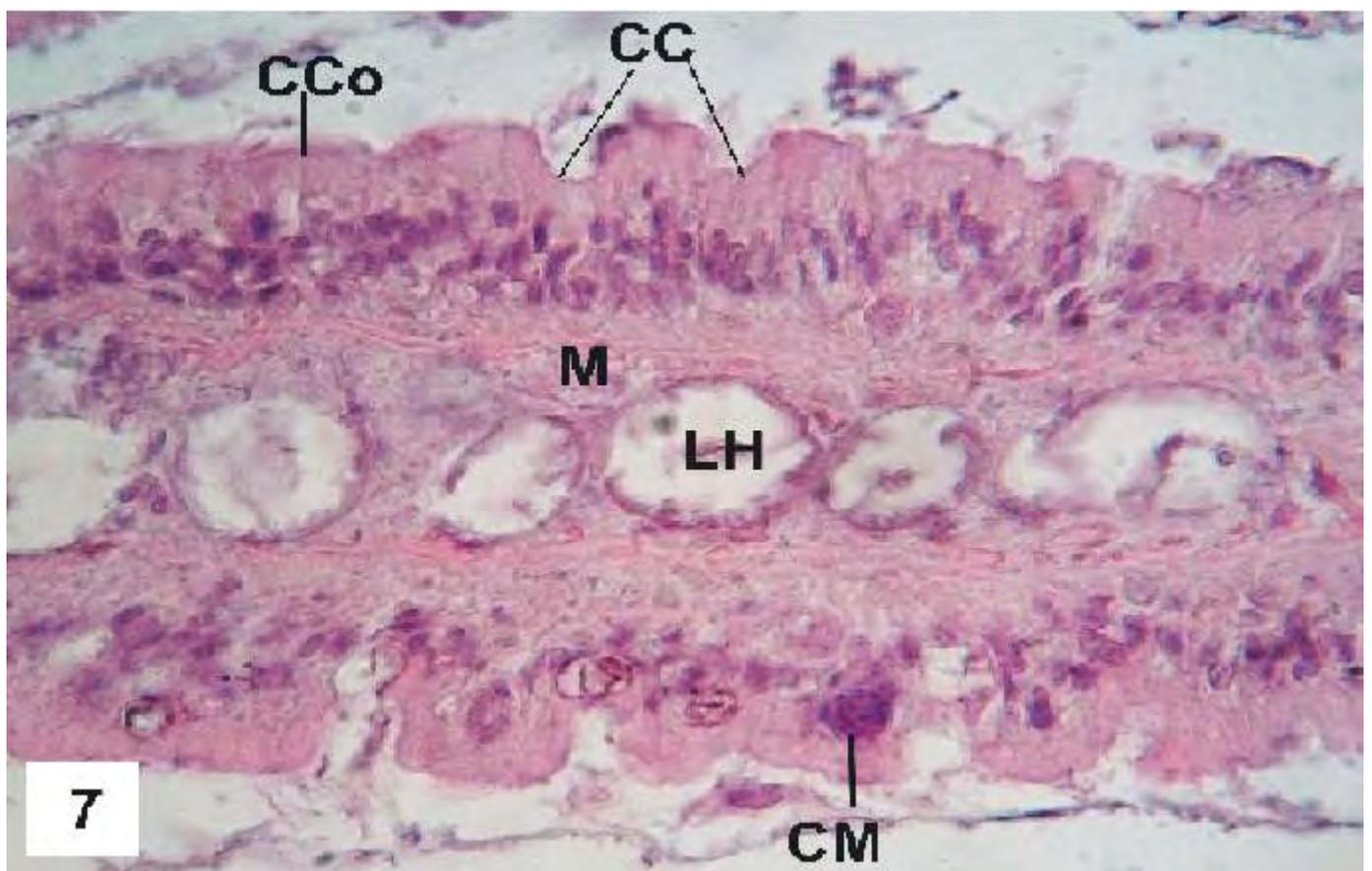
**Fig.4.** Zona apical: CCC (célula columnar ciliada), CM (célula mucosa), M (músculo). H-E 100X



**Fig. 5.** Zona apical: CM (célula mucosa). TB pH 5.6 100X



**Fig. 6.** Zona subapical: CCC (célula columnar ciliada), CM (célula mucosa), M (músculo) LH (laguna hemolinfática). H-E 100X



**Fig.7.** Zona mediobasal: CC (célula cúbica), CCo (célula columnar), M (músculo), LH (laguna hemolinfática), CM (célula mucosa). H-E 100X