

Aspectos morfológicos y ultraestructurales de la glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris* (Gastropoda, Prosobranchia)

Maria José Amor* (✉), Montserrat Ramón# & Mercedes Durfort*

* Departament de Biologia Cel·lular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Avda Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain, mamor@ub.edu, (✉) Corresponding Author

Centre d'Aquicultura (IRTA), Crtra. Poble Nou s/n km 5,5, 43540 Sant Carles de la Rapita, Spain, mramon@icm.csic.es

Resumen

Al igual que en la mayoría de los Prosobranchios, la glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris* es la más voluminosa de todas las glándulas sexuales accesorias. Está formada por dos lóbulos ovoides de 2 mm de diámetro y presenta un color ocre-blanquinoso. Entre ambos lóbulos discurre un conducto que se ensancha en sus extremos y donde en ocasiones, pueden hallarse espermatozoides eupirenicos.

Microscópicamente, se distinguen dos tipos celulares: un epitelio primático ciliado que tapiza la luz del conducto y una masa glandular yuxtapuesta a éste cuya misión es la secreción de un material gelatinoso encargado de envolver las masas de huevos en el momento de la puesta. Este tipo de células secretoras no es uniforme pudiendo encontrar diferencias de afinidad tintorial según su localización topográfica, encontrando zonas altamente eosinófilas que contrastan con otras altamente basófilas. No obstante, a nivel ultraestructural no se aprecian grandes diferencias detectándose únicamente diferentes niveles de electrodensidad en las vesículas de secreción.

Riassunto

Come nella maggior parte dei Prosobranchi, la ghiandola della capsula di *Bolinus brandaris* è la più grande di tutte le ghiandole sessuali accessorie. Essa è costituita da due lobi ovoidali di 2 mm di diametro ed è di colore ocre-bianchiccio. Tra i due lobi decorre un dotto che si allarga alle sue estremità e dove in alcune circostanze si possono trovare spermatozoi eupirenici.

Microscopicamente si distinguono due tipi cellulari: un epitelio prismatico ciliato che tappezza il lume del dotto ed una massa ghiandolare ad esso giustapposta la cui funzione è la secrezione di materiale gelatinoso preposto ad avvolgere le masse ovigeri al momento della deposizione. Questo tipo di cellule secretrici non è uniforme potendosi incontrare differenze di affinità di colorazione secondo la loro localizzazione topografica, incontrando zone fortemente eosinofile che contrastano con altre fortemente basofile.

Ciò nonostante, a livello ultrastrutturale non si apprezzano grandi differenze e si rilevano unicamente differenti livelli di elettrodensità nelle vescicole di secrezione.

Abstract

Like in most Prosobranchs, the capsular gland of *Bolinus brandaris* is the largest accessory sexual gland. It consists of two egg shaped, ochraeous-whitish lobes, 2 mm in diameter. A duct runs within the two lobes, widening at both extremities where eupyrenic sperms are sometimes present.

Microscopically, two cellular types can be distinguished: a ciliate prismatic epithelium, lining the duct, and a juxtaposed glandular mass, the function of which is the secretion of gelatinous material, used to wrap the ovigerous masses during deposition. There are different types of secretory cells, as zones with different colouration affinity, strongly eosinophilic vs strongly basophilic, are present in different positions. In spite of this, no marked difference can be detected ultrastructurally and only different levels of electrodensity in the secretory vesicles were recorded.

Palabras clave

Glándula de la cápsula, epitelio ciliado, epitelio glandular, secreciones.

Introducción

Según el tipo de fecundación, el aparato reproductor de los moluscos presenta mayor o menor grado de complejidad, así si la fecundación es externa su complejidad será menor que si es intena (Jong-Brink *et al.*, 1983).

En los moluscos con fecundación interna, como es el caso de *Bolinus brandaris*, se describen tres tipos de glándulas accesorias: glándula de la albúmina, glándula ingestiva y glándula de la cápsula, todas ellas surcadas por un oviducto que parte del ovario.

La glándula de la cápsula es la más voluminosa de las glándulas sexuales accesorias femeninas y su misión es la de secretar una serie de productos de consistencia ge-

latinos que servirá de vehículo de unión de los huevos fecundados formando masas arracimadas (Fretter, 1941; Hymann, 1967 y Grassé, 1968) a fin de ser evacuadas al exterior.

Aunque existe una amplia bibliografía describiendo la anatomía e histología de la glándula de la cápsula en diversos Gasterópodos (Fretter, 1941; Hymann, 1967; Grassé, 1968; Ponder, 1973; Houston, 1976; West, 1979; Fioroni, Oehlmann and Stroben, 1990; Shulte-Oehlmann *et al.* y Oehlmann *et al.* 1996) apenas si hay citas bibliográficas referentes a la ultraestructura de este órgano. Habiendo publicado los autores datos ultraestructurales acerca de la gametogénesis de *B. brandaris* (Amor and Durfort, 1990a y b; Amor *et al.*, 1994) así como del apa-

rato reproductor masculino (Amor, 1992), nos vamos a referir en este artículo, a una descripción morfológica y ultraestructural de la glándula de la cápsula.

Materiales y métodos

Recogida de muestras

Numerosos especímenes de *Bolinus brandaris* fueron capturados en la costa mediterránea española (Blanes) a profundidades de 15-25 metros (Martín *et al.*, 1995).

Estudio microscópico

Tras ser extraídos de la concha, las glándulas femeninas accesorias de 30 ejemplares de *B. brandaris*, fueron procesadas para su estudio en microscopía óptica y electrónica.

Para su estudio en microscopía óptica, pequeñas porciones de la glándula de la cápsula fueron fijadas con formol al 10% y, tras una deshidratación progresiva, incluidas en parafina. Tras la obtención de cortes seriados de 6-8 μm de grosor, parte de ellas fueron teñidas con la doble tinción de hematoxilina-eosina a fin de obtener una vista panorámica, mientras otras fueron sometidas a la técnica citoquímica de PAS (ácido periódico-reactivo de Schiff) a fin de poner en evidencia la posible presencia de carbohidratos.

Pequeñísimas porciones (1 mm^2) fueron procesadas mediante la técnica convencional de la doble fijación en glutaraldehído 2,5% - paraformaldehído 3,5%, y tetraóxido de osmio al 2%, en ambos casos tamponado con tampón fosfato (Sörensen). Tras una deshidratación progresiva con acetona, fueron incluidas en resina Supr, siendo polimerizados los bloques en una estufa a 60° durante 48-72 horas. Cortes semifinos de 0,5-1 μm de grosor fueron teñidos con azul de metileno-bórax y observados con microscopía óptica a fin de seleccionar la zona donde realizar los cortes ultrafinos. Los cortes ultrafinos (30 nm de grosor) se realizaron mediante un ultramicrotomo Reichert-Omu provisto de cuchilla de diamante. Para la observación en microscopía electrónica convencional, las muestras fueron capturadas en rejillas de cobre y posteriormente contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo. Por el contrario, para realizar la técnica citoquímica de Thiery, las secciones se capturaron en rejillas de oro. Las observaciones se llevaron a cabo en un microscopio electrónico JEOL JEM1010 de los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona.

Resultados

Generalidades

La glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris* es la mayor de todas las glándulas accesorias femeninas. Anatómicamente se encuentra situada en el tramo final del oviducto paleal, conectándose a su vez con la glándula ingestiva (Fig. 1 a). Microscópicamente se halla formada por dos lóbulos arriñonados de unos 2 mm de diámetro

que dejan entre sí un conducto de aproximadamente 300 μm por el que discurrirán los oocitos fecundados, y donde no es extraño encontrar espermatozoides. Dicho conducto no es uniforme en su longitud total, presentando dos ensanchamientos con divertículos en su porción dorsal y basal (Fig. 1 b). En cortes transversales es posible observar la presencia de la bolsa copulatriz conteniendo espermatozoides en su interior (Fig. 1 b). Ultraestructuralmente, cada lóbulo se halla formado por dos tipos de epitelio: un epitelio prismático ciliado con microvilli que recubre externamente el conducto que da a la luz, y un epitelio glandular, yuxtapuesto a él, y unido por un estroma conjuntivo (Fig. 1 c, d). Este epitelio glandular secreta un material gelatinoso encargado de envolver las masas de huevos en el momento de la puesta.

La afinidad tintorial de las células glandulares no es uniforme a lo largo de su topografía. Así, en la zona proximal respecto al ovario, la casi totalidad de las células glandulares son eosinófilas. Solamente una pequeña área celular, localizada en el extremo basal de los lóbulos presenta una basofilia considerable. Por otro lado, pueden distinguirse dos áreas con diferentes afinidades tintoriales dentro de la zona eosinófila: el área celular más próxima a la zona basófila, presenta mayor eosinofilia que el área yuxtapuesta a ésta en sentido ascendente, es decir, conforme nos aproximamos a la zona periférica del lóbulo (Fig. 2 a). En cortes transversales en zonas más alejadas del ovario, el área celular basófila se incrementa de una manera considerable, mientras en la zona eosinófila las diferencias tintoriales no son tan pertinentes (Fig. 2 b). Estas diferencias tintoriales se traducen asimismo en diferencias a nivel histoquímico: la técnica del PAS, evidenciada de la presencia de carbohidratos, señala que las zonas de intensa basofilia coinciden con reacciones PAS positivas, indicando por consiguiente la presencia de carbohidratos entre las secreciones de dichas células. Por el contrario, las áreas eosinófilas son totalmente PAS negativas (Fig. 2 c, d).

Estudio del epitelio ciliado

Observado con microscopía óptica, las células de este epitelio tampoco presentan uniformidad en su afinidad tintorial. Así, las células próximas a las áreas basófilas presentan asimismo basofilia citoplasmática no uniforme, dando la impresión de ejercer una misión de vehiculación del material glandular hacia el exterior (Fig. 3 a). Ultraestructuralmente, este epitelio aparece formado por unas células de 40 μm de altura, presentan unos cilios de 12 μm en las regiones más cercanas al ovario, que incrementan notoriamente en las zonas más próximas al final del conducto: 20 μm . Entre estos cilios es frecuente la presencia de microvilli.

Como es habitual, los cilios parten de unos corpúsculos basales de 0,3 μm de diámetro, cerca de los cuales es frecuente detectar la presencia de mitocondrias. Las crestas de algunas mitocondrias desaparecen progresivamente, conservándose sin embargo la membrana externa formando unas vesículas. En la confluencia en la

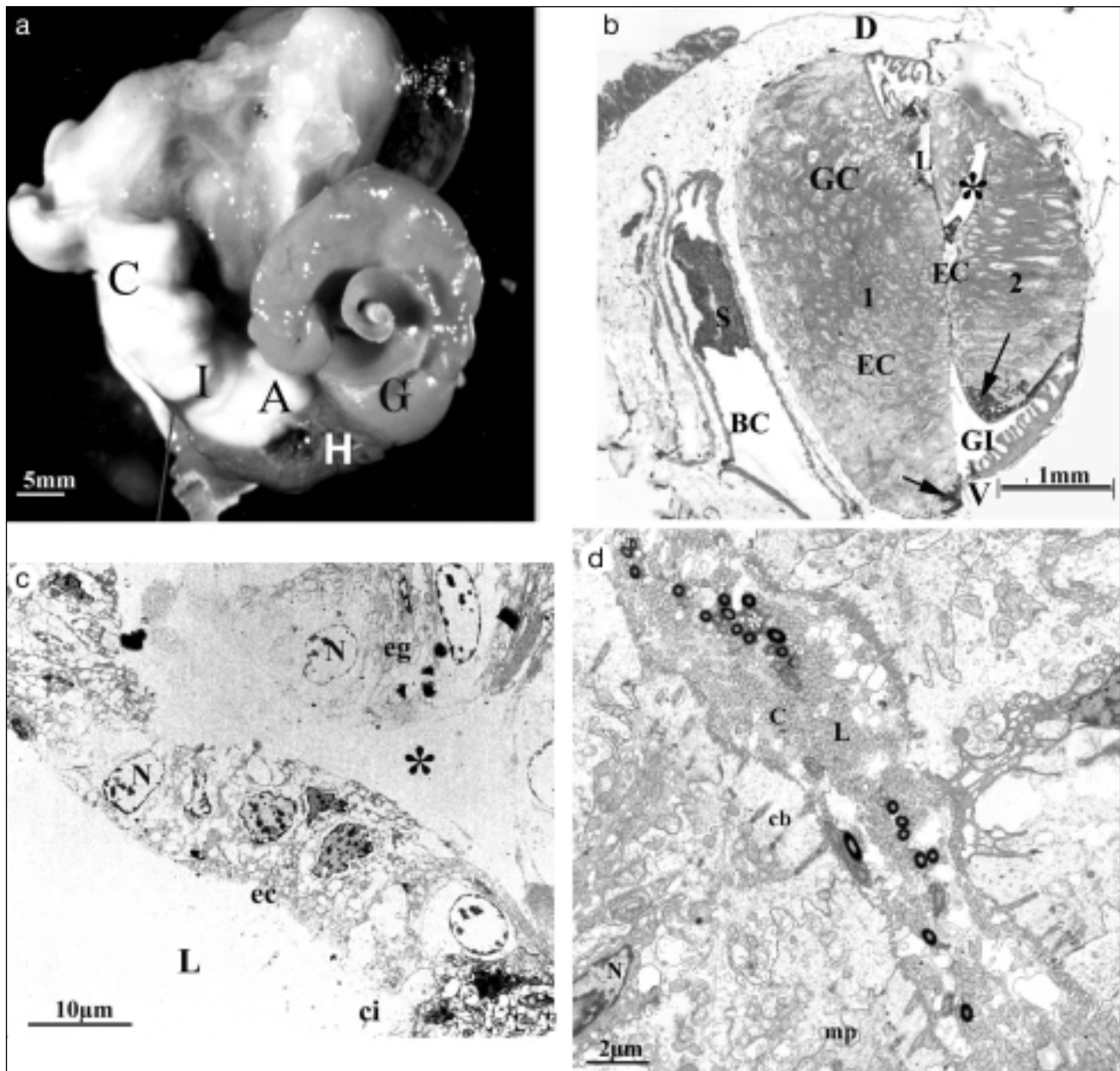


Fig. 1. Generalidades anatómicas, morfológicas y ultraestructurales de la glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris*. **a.** Vista panorámica de la masa visceral tras la extracción de la concha. A. glándula de la albúmina, C. glándula de la cápsula, G. gónada femenina, I. glándula ingestiva, H. hepatopáncreas; **b.** Corte transversal de la glándula de la cápsula: (GC) observada con microscopía óptica. Paralela a ella se distingue la bolsa copulatrix (BC), D. región dorsal, V. región ventral. Obsérvense los dos lóbulos (1 y 2) entre los que discurre un conducto tapizado por epitelio ciliado (EC). Se aprecia la formación de divertículos (asterisco) en el lumen (L), así como la parte del oviducto que conecta con la glándula ingestiva (GI). Yuxtapuesto al epitelio ciliado se detecta la presencia del epitelio glandular (EG), distinguiéndose una región altamente basófila (flecha) en la parte inferior de los lóbulos. Hematoxilina-eosina; **c, d.** Imágenes ultraestructurales de la glándula de la cápsula mostrando el epitelio ciliado (ec) que tapiza el conducto que da a la luz (L). Obsérvese la unión de este epitelio con el epitelio glandular mediante un estroma conjuntivo (Fig. 1 c. asterisco). **d.** presenta abundantes cilios C entre los que aparecen cortes transversales de espermatozoides eupirenos (asterisco). En la base de los cilios se detectan los característicos corpúsculos basales (cb), mp. membrana plasmática, N. núcleo, ec. epitelio ciliado.

Fig. 1. Generalità anatomiche, morfologiche e ultrastrutturali della ghiandola della capsula di *Bolinus brandaris*. **a.** Veduta panoramica della massa viscerale dopo l'estrazione dalla conchiglia. A. ghiandola dell'albúmina, C. ghiandola della capsula, G. gonade femminile, I. ghiandola digestiva, H. epatopancreas; **b.** Sezione trasversale della ghiandola della capsula: (CG) osservata alla microscopia ottica. Accanto ad essa si distingue la borsa copulatrice (BC), D. regione dorsale, V. regione ventrale. Si osservano i due lobi (1 e 2) tra i quali decorre un dotto tappezzato da un epitelio ciliato (EC). Si vede la formazione di diverticoli (asterisco) nel lume (L), così come la parte dell'ovidotto che si connette con la ghiandola digestiva (GI). Giustapposto all'epitelio ciliato si osserva la presenza dell'epitelio ghiandolare (EG), si distingue una regione fortemente basofila (freccia) nella parte inferiore dei lobi. Ematossilina-eosina; **c, d.** Immagini ultrastrutturali della ghiandola della capsula in cui si evidenzia l'epitelio ciliato (ec) che tappezza il dotto che porta al lume (L). Si osserva l'unione di questo epitelio con l'epitelio ghiandolare mediante uno stroma connettivo (Fig. 1 c. asterisco). **d.** presenta numerose ciglia C tra quelle che appaiono sezioni trasversali di spermatozoi eupirenici (asterisco). Alla base delle ciglia si rilevano i caratteristici corpuscoli basali (cb), mp. membrana plasmatica, N. nucleo, ec. epitelio ciliato.

parte apical de las células, es frecuente hallar desmosomas de 0,4 μm de longitud (Fig. 3 d). Lateralmente, la membrana plasmática presenta invaginaciones que se acentúan notablemente en la zona basal, colindante con la lámina basal (Fig. 3 e).

Los núcleos de morfología ovoide presentan de ubicación basal. Su diámetro mayor es de 11,5 μm , apareciendo la cromatina condensada en grumos esparcidos por el nucleoplasma, con una banda periférica de heterocromatina. (Fig. 3 b, c)

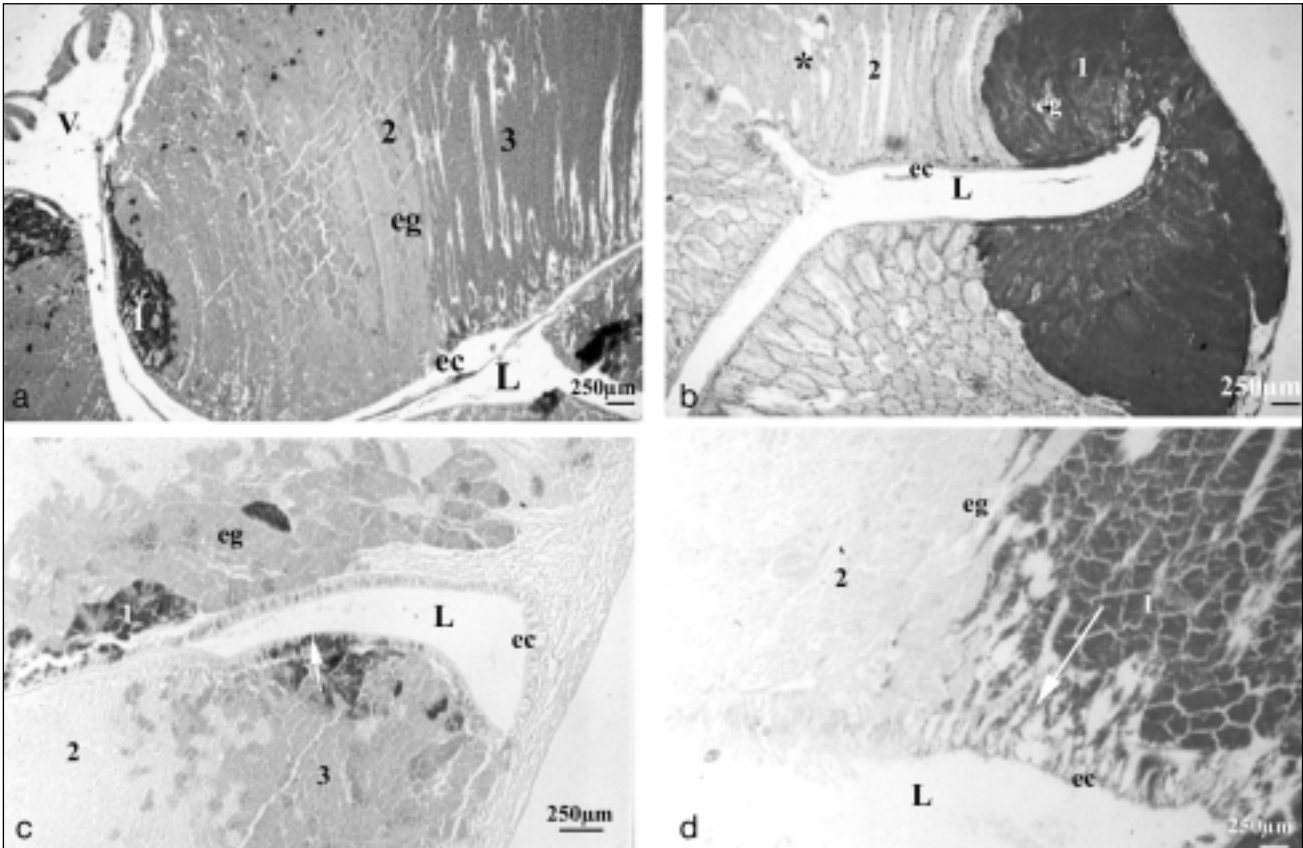


Fig. 2. Características físico-químicas de la glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris*. **a.** muestra un corte transversal de la glándula de la cápsula en su región más próxima al ovario, distinguiéndose tres zonas diferentes según su afinidad tintorial. 1: altamente basófila, 2: altamente eosinófila y 3, de afinidad tintorial intermedia; **b.** (zona más proxima a la vagina) observamos que el área basófila se ha incrementado, mientras que el área eosinófila (asterisco) aparece tintorialmente uniforme. Hematoxilina eosina; **c, d.** muestran los cortes anteriores tras la aplicación de la técnica histoquímica de PAS. Obsérvese como existe un paralelismo entre PAS positivo y basofilia, siendo las zonas altamente basófilas (1) las que presentan una reacción PAS altamente positiva, las regiones medianamente basófilas (2), presentan una reacción PAS poco acusada y las altamente eosinófilas (3) son totalmente PAS negativas, pudiéndose comprobar a su vez, el paso de las secreciones del material glandular al epitelio ciliado (flechas) muy patenete sobre todo en la zona 1. Abreviaturas: ec: epitelio ciliado; eg: epitelio glandular; L: lumen; ec: epitelio ciliado; eg: epitelio glandular; V: región ventral.

Fig. 2. Caratteristiche fisico-chimiche della ghiandola della capsula di *Bolinus brandaris*. **a.** mostra una sezione trasversale della ghiandola della capsula nella sua regione più prossima all'ovario, e si distinguono tre zone differenti secondo la loro affinità di colorazione: 1. fortemente basofila, 2. fortemente eosinofila e 3. di affinità di colorazione intermedia; **b.** (zona più prossima alla vagina) osserviamo che l'area basofila si è incrementata, mentre l'area eosinofila (asterisco) ci appare di colorazione uniforme. Ematossilina eosina; **c, d.** mostrano le sezioni anteriori dopo l'applicazione della tecnica istochimica PAS. Si osserva che esiste un parallelismo tra PAS positivo e basofilia, essendo le zone fortemente basofile (1) per cui presentano una reazione PAS fortemente positiva, le zone moderatamente basofile (2), presentano una reazione PAS poco evidente e quelle fortemente eosinofile (3) sono totalmente PAS negative, potendosi accertare a sua volta il passaggio delle secrezioni del materiale ghiandolare all'epitelio ciliato (freccia) molto evidente soprattutto nella zona 1. Abbreviazioni: ec: epitelio ciliato, eg: epitelio ghiandolare, L: lume, V: regione ventrale.

Estudio del epitelio glandular

Como se ha señalado anteriormente, el epitelio glandular se halla yuxtapuesto al epitelio ciliado, unido a él por un estroma conjuntivo (Fig. 1 c, b). Las células que lo componen se asocian originando glándulas tubulosas, unidas por tejido conjuntivo (Fig. 4 a, b). En el estadio de madurez celular, el núcleo, de morfología irregular, presenta semejanza con el del las células prismáticas midiendo 6,25 μm de diámetro, quedando desplazado a la parte más periférica de la glándula (Fig 4 a). Como ya se ha señalado anteriormente, aunque las células glandulares morfológicamente son todas muy semejantes, no lo son en cambio sus productos de secreción, encontrándose regiones cuyas secreciones poseen alto contenido de carbohidratos, zonas donde la concentración de carbohidratos es menor y zonas en las que su presencia es inapreciable (Fig. 2 c, d). Este contenido no parece ser secretado directamente a la luz, sino que parece pasar a través del epitelio de revestimiento, como se había señalado anteriormente (Figs. 2 c, d y 4 b).

Ultraestructuralmente, una vez alcanzada la madurez, estas células presentan abundantísimas vesículas de diferente grado de electrodensidad, (Figs. 4 c y 5 d). En las etapas iniciales de maduración, el núcleo en cambio, presenta una morfología típica de célula sintetizadora, caracterizándose por una cromatina laxa distribuida por el nucleoplasma, con presencia de uno o varios nucleolos (Figs. 4 e, f y 5 a, b).

Los orgánulos citoplasmáticos encargados del proceso de síntesis, por tanto, estarán muy desarrollados en esta fase. Así se observa un gran desarrollo del retículo endoplasmático rugoso (Fig. 5 a), el complejo de Golgi, (Fig. 5 a, b) y las mitocondrias (Fig. 5 b). Las vesículas formadas son de diferente electrodensidad, pudiendo encontrar tres grados en la misma (Fig. 5 d), apareciendo en ocasiones estrías en ellas (Fig. 5 c, d). Sin embargo, no se han detectado significativas diferencias con la técnica de Thiery, que sí ha dado positiva evidenciando gránulos de glucógeno (Fig. 5 e). Una vez alcanzada la madurez, el núcleo queda desplazado, y los orgánulos

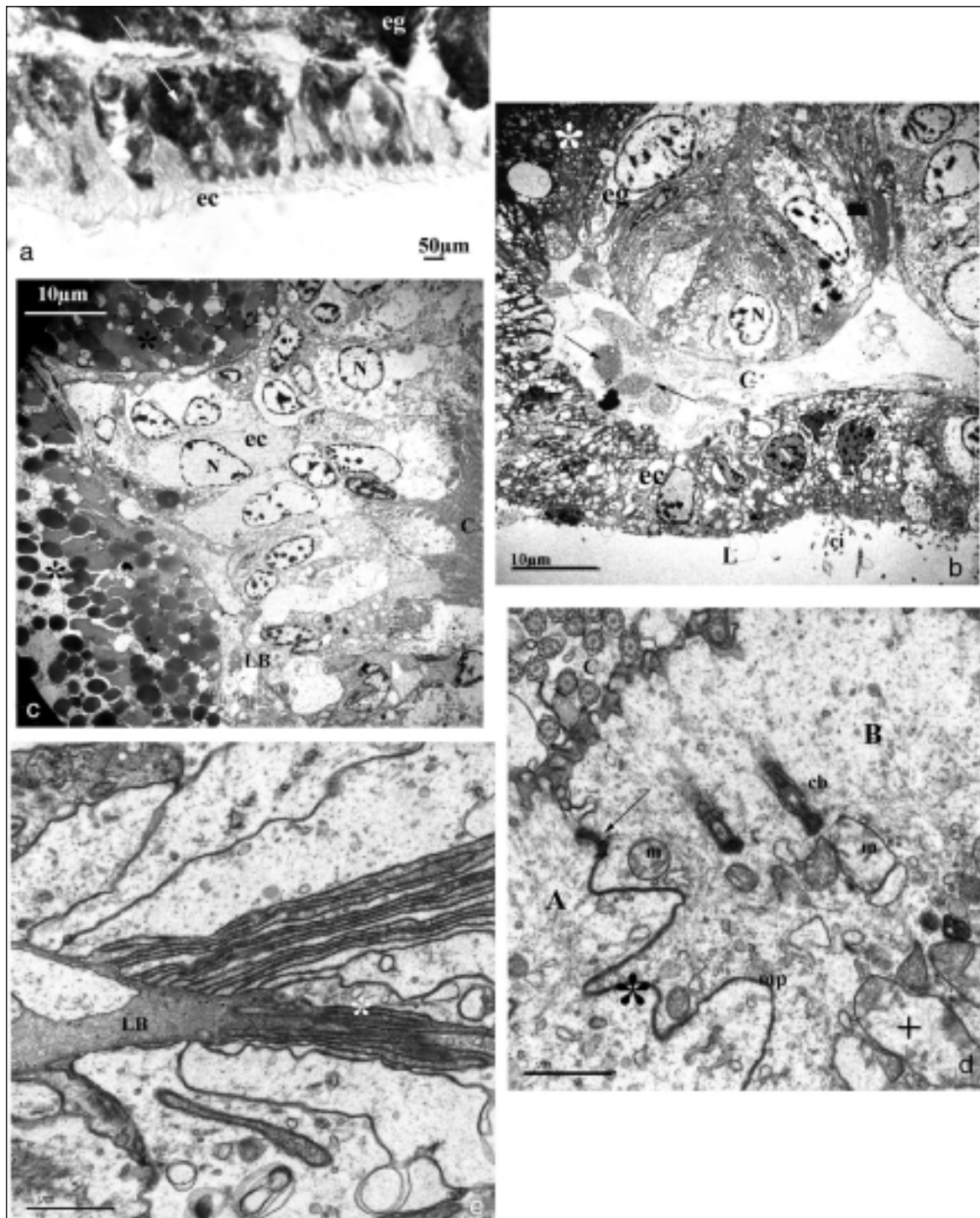


Fig. 3. Estudio del epitelio ciliado de la glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris*.

Imagen del epitelio ciliado (ec) observado con microscopía óptica. Obsérvese la incorporación de material procedente del epitelio glandular (eg) hacia el interior de las células ciliadas (flecha). (Hematoxilina-eosina), **b-e.** corresponden a imágenes ultraestructurales de las células ciliadas: **b.** muestra una vista panorámica del epitelio ciliado (ec) en confluencia con el epitelio glandular (eg) unidos por un estroma conjuntivo (C), donde se observan haces de fibras colágenas (flechas). Vesículas de diversa electrodensidad pueden apreciarse en el interior de las células glandulares (asterisco). (ci: cilios, L: lumen); **c.** muestra una visión de conjunto de varias células epiteliales. Abundantes cilios (C) se muestran en la región apical, mientras los núcleos (N) aparecen ubicados en la zona basal, próximos a la lámina basal (LB). Porciones de epitelio glandular (asterisco) se observan en sus proximidades; **d.** se observan detalles del ápice celular. Obsérvese la presencia de corpúsculos basales (cb) y mitocondrias (m) en el citoplasma. En membrana plasmática lateral (mp), entre las células A y B se aprecian desmosomas (flecha) en la zona superior de la así como invaginaciones en porciones más bajas de dicha membrana (asterisco). Algunas mitocondrias parecen estar en vías de degeneración (+); **e.** nos muestra la porción basal del epitelio ciliado, detectándose grandes invaginaciones de la membrana plasmática (asterisco), así como un gran desarrollo de la lámina basal (LB).

Fig. 3. Studio dell'epitelio ciliato della ghiandola della capsula di *Bolinus brandaris*. Immagine dell'epitelio ciliato (ec) osservato alla microscopia ottica. Si osserva l'incorporazione del materiale proveniente dall'epitelio ghiandolare (eg) verso l'interno delle cellule ciliate (freccia). (Ematossilina-eosina), **b-e.** corrispondono a immagini ultrastrutturali delle cellule ciliate: **b.** mostra una veduta panoramica dell'epitelio ciliato (ec) in confluencia con l'epitelio ghiandolare (eg) uniti da uno stroma connettivo (C), dove si osservano fasci di fibre collagene (freccia). Vescicole di diversa elettrodensità si possono apprezzare all'interno delle cellule ghiandolari (asterisco). (ci: ciglia, L: lume); **c.** mostra una visione d'insieme di varie cellule epiteliali. Abbondanti ciglia (C) si presentano nella regione apicale, mentre i nuclei (N) appaiono ubicati nella buona basale, vicini alla lamina basale (LB). Porzioni di epitelio ghiandolare (asterisco) si osservano nelle sue vicinanze; **d.** si osservano dettagli dell'apice cellulare. Si osserva la presenza di corpuscoli basali (cb) e mitocondri (m) nel citoplasma. Nella membrana plasmatica laterale (mp), tra le cellule A e B si notano desmosomi (freccia) nella sua zona superiore nonché invaginazioni nelle porzioni più basse di questa membrana (asterisco). Alcuni mitocondri sembrano essere in via di degenerazione (+); **e.** ci mostra la porzione basale dell'epitelio ciliato, e si rilevano grandi invaginazioni della membrana plasmatica (asterisco), nonché un grande sviluppo della lamina basale (LB).

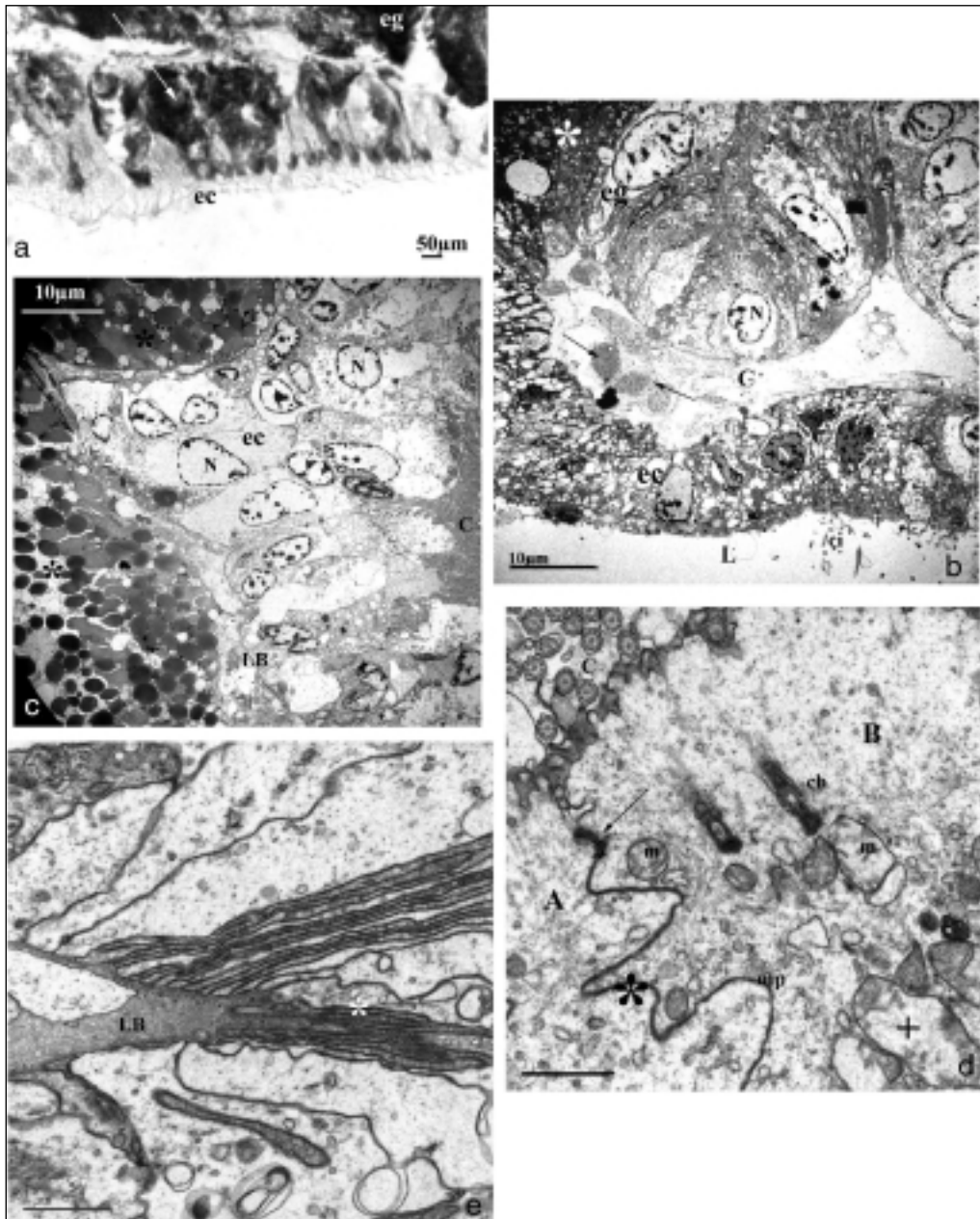


Fig. 4. Estudio del epitelio glandular de la glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris*: **a, b.** muestran la organización celular del epitelio glandular (eg) con microscopía óptica, en sus áreas eosinófila y basófila respectivamente. (Hematoxilina-eosina); **a.** corresponde a un corte longitudinal del epitelio ciliado en su zona eosinófila. Se puede observar la forma tubulosa de las glándulas así como el material globuloso en su interior (asterisco). Obsérvese la posición periférica de sus núcleos (flechas) apreciándose el epitelio ciliado (ec) junto al lumen (L) con núcleos de posición basal (n); **b.** corte transversal de una zona del área basófila, mostrando la organización tubulosa de sus glándulas (eg) rodeadas y unidas por tejido conjuntivo (asterisco). Se aprecia asimismo el paso de material glandular al epitelio ciliado (flechas). (ec: epitelio ciliado, L: lumen). **c-f.** corresponden al estudio ultraestructural del epitelio glandular; **c.** nos muestra la imagen de varias células glandulares colindantes, observadas con microscopía electrónica de transmisión convencional. Se puede observar el gran desarrollo citoplasmático de estas células totalmente invadidas de vesículas de secreción con diversos grados de electrodensidad (asterisco), desplazándose los núcleos hacia los extremos celulares (flechas) próximos a la membrana plasmática (mp). En sus proximidades se aprecian núcleos del epitelio ciliado (N); **d.** nos muestra una imagen de la región basal de las células glandulares. Se observa el gran desarrollo de la lámina basal (LB) así como las enormes invaginaciones de la membrana plasmática basal (asteriscos). Bajo la lámina basal se observa un núcleo (N) del tejido conjuntivo adyacente; **e, f.** se observan estadios celulares en fase de síntesis; **e.** muestra una panorámica donde se aprecian las células con un citoplasma pobre en contenido vesicular (C), y unos núcleos (N) con cromatina laxa y nucleolos (n). Se observa asimismo la lámina basal (LB) y el tejido conjuntivo adyacente (C).

Fig. 4. Studio dell'epitelio ghiandolare della ghiandola della capsula di *Bolinus brandaris*. **a, b.** mostrano l'organizzazione cellulare dell'epitelio ghiandolare (eg) alla microscopia ottica nelle sue aree rispettivamente eosinofila e basofila. (Ematossilina-eosina). **a.** corrisponde ad una sezione longitudinale dell'epitelio ciliato nella sua zona eosinofila. Si può osservare la forma tubulare delle ghiandole nonché il materiale globulare al suo interno (asterisco). Si osserva la posizione periferica dei suoi nuclei (frecce) e si scorge l'epitelio ciliato (ec) presso il lume (L) con i nuclei in posizione basale (n); **b.** sezione trasversale di una zona dell'area basofila che mostra l'organizzazione tubulare delle sue ghiandole (eg) circondate ed unite da tessuto connettivo (asterisco). Si scorge anche il passaggio di materiale ghiandolare all'epitelio ciliato (frecce), (ec: epitelio ciliato, L: lume); **c-f.** corrispondono allo studio ultrastrutturale dell'epitelio ghiandolare: **c.** ci mostra l'immagine di varie cellule ghiandolari limitrofe, osservate alla microscopia elettronica a trasmissione convenzionale. Si può osservare il grande sviluppo citoplasmatico di queste cellule totalmente invase da vescicole di secrezione con diversi gradi di elettrodensità (asterisco), e i nuclei si spostano verso gli estremi cellulari (freccia) prossimi alla membrana plasmatica (mp). Nelle loro vicinanze si scorgono nuclei dell'epitelio ciliato (N); **d.** ci mostra un'immagine della regione basale delle cellule ghiandolari. Si osserva il grande sviluppo della lamina basale (LB) nonché le grosse invaginazioni della membrana plasmatica basale (asterischi). Sotto la lamina basale si osserva un nucleo (N) del tessuto connettivo adiacente; **e, f.** si osservano stadi cellulari in fase di sintesi: **e.** mostra una panoramica dove si apprezzano le cellule con un citoplasma povero di contenuto vescicolare (C), e alcuni nuclei (N) con cromatina scarsa e nucleoli (n). Si osserva anche la lamina basale (LB) ed il tessuto connettivo adiacente (C).

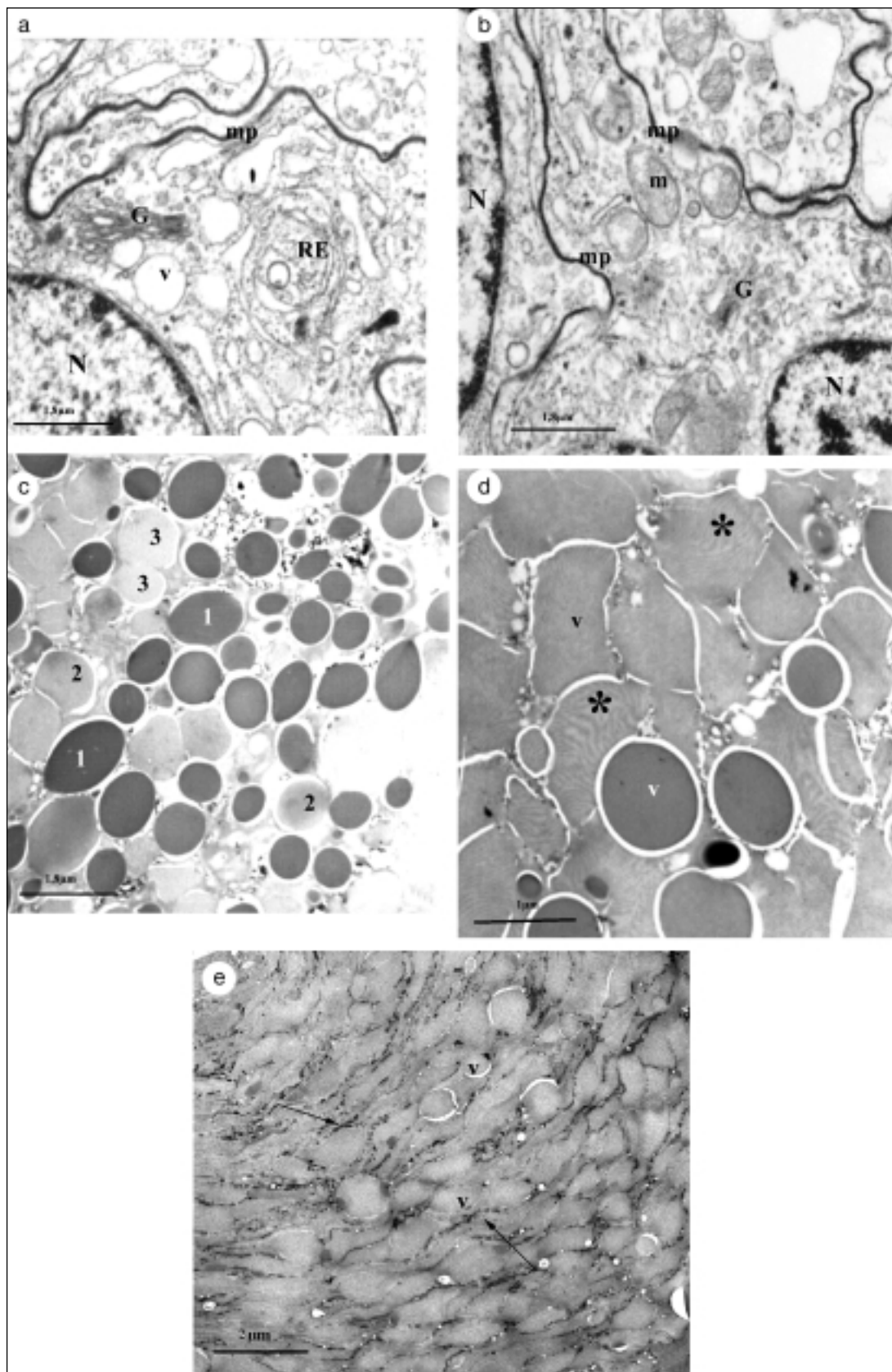


Fig. 5. Proceso de maduración de las células glandulares: **a, b.** nos muestran la ultraestructura de células glandulares en las fases primarias de su maduración. Obsérvese el gran desarrollo del retículo endoplasmático rugoso (RER) próximo a un dictiosoma golgiano (G) (**a.**), así como el gran desarrollo mitocondrial (**b.**). En las proximidades se observa el núcleo (N) y la membrana plasmática (mp); **c, d.** podemos ver la morfología vesicular, en general ovoide y presentando tres grados de electrodensidad (1, 2, y 3, en **a.**). Obsérvese la presencia de estriaciones y aspecto fibroso en algunas de ellas (**d.** asterisco); **e.** observamos una imagen semejante a la anterior, pero tratada con la técnica citoquímica de Thiery, específica para evidenciar los carbohidratos. Obsérvese que ninguna de las vesícula (v) es positiva a esta técnica, apareciendo, por el contrario, altamente marcados los abundantes gránulos de glucógeno que las circundan.

Fig. 5. Processo di maturazione delle cellule ghiandolari. **a, b.** ci mostrano l'ultrastruttura delle cellule ghiandolari nelle fasi primarie della loro maturazione. Si osserva il grande sviluppo del reticolo endoplasmatico rugoso (RER) vicino ad un dittiosoma golgiano (G): **a.** nonché il grande sviluppo mitocondriale, **b.** nelle vicinanze si osserva il nucleo (N) e la membrana plasmatica (mp); **c, d.** possiamo osservare la morfologia vescicolare, in generale ovoide e che presenta tre gradi di elettrodensità (1, 2 e 3, in **a.**). Si osserva la presenza di striature e di aspetto fibroso in alcune di esse (**d.** asterisco); **e.** osserviamo una immagine simile alla precedente, ma trattata con la tecnica citochimica di Thiery, specifica per evidenziare i carboidrati. Si osserva che nessuna delle vescicole (v) risulta positiva a questa tecnica, apparendo, al contrario, fortemente marcati gli abbondanti granuli di glicogeno che le circondano.

citoplasmáticos pasan desapercibidos entre los gránulos. La morfología nuclear, cambia a su vez. La cromatina se compacta formando grumos especos que se distribuyen aleatoriamente por el nucleoplasma, mientras una banda de heterocromatina se dispone periféricamente y, debido al alto contenido citoplasmático, los núcleos se desplazan hacia la periferia celular (Fig. 4 e). La lámina basal está asimismo muy desarrollada, al igual que la zona basal de la membrana plasmática que se invagina notablemente (Fig. 4 d).

Discusión

La glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris* podría decir que corresponde a la descripción "standard" realizada clásicamente en el estudio de las glándulas femeninas accesorias dentro del grupo de los Neogastrópodos como citan, entre otros, Fretter, 1941; Hymann, 1967; Grassé, 1968; Ponder, 1973; Houston, 1976; Oehlmann *et al.*, 1988 y Fretter and Graham, 1994, es decir, la más voluminosa de las glándulas accesorias femeninas estando formada por dos lóbulos que dejan entre sí un conducto tapizado por un epitelio ciliado y, yuxtapuesto a él, un epitelio glandular encargado de secretar una serie de sustancias que unirán los huevos con finalidad de formar racimos gelatinosos. Paralela a esta glándula se sitúa la bolsa copulatriz tal como lo describe Ponder (1973) en numerosos Prosobranchios.

A microscopía óptica, realizando tinciones dicrómicas, el epitelio glandular revela zonas con diferente afinidad tintorial, lo que se traduce en diferente pH de sus compuestos y por tanto, en la naturaleza de los mismos, como se demuestra en la presencia de proteoglucanos dada por la reacción positiva a la técnica del PAS en algunas regiones. Fenómenos similares se han descrito ya en otras especies: Houston (1976) en *Columbella fuscata*; West (1979) en *Colus stimpsoni* y Srilakshmi (1991) en *Morula granulata*. Sin embargo *B. brandaris* presenta unas peculiaridades específicas, como es el paso de sustancias provenientes del epitelio glandular hacia el citoplasma de las células ciliadas más próximas, indicando una posible elaboración del producto por parte de dicho epitelio ciliado. Este hecho corrobora una anterior hipótesis establecida por los autores sobre el epitelio del conducto (Amor *et al.*, 2003). Asimismo, se observa un incremento en la longitud de los cilios del epitelio de revestimiento, conforme avanzamos por el conducto hacia la vagina. Este fenómeno se da también a lo largo del gonoducto masculino de esta especie, y, tal como se señaló (Amor, 1992), podría significar una mayor efectividad en la evacuación de las masas de huevos, entonces ya totalmente formadas. Estos cilios, parten de los correspondientes corpúsculos basales, prolongándose en raíces filiales estriadas (Amor *et al.*, 2003). La presencia de mitocondrias en sus proximidades supone un aporte de energía directo para el movimiento ciliar, como ha sido descrito en otros casos (Durfort *et al.*, 1990). Por otro lado, este epitelio mantiene los cilios durante todo su trayecto, contrastando con las descripciones dadas por Srilakshmi, 1991, que señala que la superficie del canal

ventral no está ciliada. La presencia de microvilli, así como el gran desarrollo de la zona basal de la membrana plasmática, supone, como ya ha sido descrito (Amor *et al.*, 2003) una misión de paso en estas células.

El epitelio glandular, al igual que en otras especies (West, 1979) está formado por glándulas tubulosas. Las células de estas glándulas corresponden a la morfología característica de una célula sintetizadora en cuanto a morfología nuclear como en el desarrollo de los orgánulos intracitoplasmáticos, siendo el complejo de Golgi el elaborador definitivo de los productos finales de la secreción. Estos productos quedan rodeados por membranas. Estas membranas podrán provenir tanto del complejo de Golgi directamente, como posiblemente de mitocondrias degeneradas que, al perdiendo sus crestas representan un reservorio membranoso, igual que sucede en la formación de las plaquetas vitelinas de, entre otros, esta misma especie (Amor *et al.*, 2004). Cuando la célula adquiere su grado máximo de madurez, su interior se halla repleto de vesículas de diferente electrodensidad que siempre presentan morfología fusiforme, no sucediendo como en *C. stimpsoni*, en que en la región ventral los gránulos presentan morfología esférica (West, 1979). En ocasiones, similares a las aportadas por West (1979) pueden aparecer estriaciones transversales en las vesículas, así como es notoria la presencia de glucógeno entre ellas.

El gran desarrollo de la zona basal de la membrana plasmática que indica un incremento de superficie, podría indicar que no todos los productos segregados pasan al exterior, sino que parte de ellos podrían pasar a tejidos vecinos o a la hemolinfa, pudiendo quizá realizar una función endocrina.

Bibliografía

- AMOR M.J. & DURFORT M. 1990a. Changes in nuclear structure during eupyrene spermatogenesis in *Murex brandaris*. *Molecular Reproduction and Development*, **25**: 348-356.
- AMOR M.J. & DURFORT M. 1990b. Atypical spermatogenesis in *Murex brandaris*. *Molecular Reproduction and Development*, **25**: 357-363.
- AMOR M.J., 1992. Ultrastructural study of the mucosa of the male gonoduct of *Murex brandaris Hexaplex brandaris* (Gastropoda, Prosobranchia). *Invertebrate Reproduction and Development*, **21**(2): 81-160.
- AMOR M.J., RIBES E., 1994. Ultraestructura de la ootestis de *Dendrodoris grandiflora* (Mollusca: Nudibranchia) *Biología de la Reproducción*, Barcelona, SCB.: 11-13.
- AMOR M.J., RAMÓN M. & DURFORT M., 2003. El conducto exterior de la glándula de la cápsula de *Bolinus brandaris* (Gastropoda, Prosobranchia): Estudio estructural y ultraestructural. *Iberus*, **21**(1): 105-113.
- AMOR M.J., RAMÓN M. & DURFORT M., 2004. Ultrastructural studies of oogenesis in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae). *Scientia Marina*, **68** (3): 343-353.
- DURFORT M., BOZZO M.G., POQUET M., SAGRISTÀ E., FERRER J., GARCÍA VALERO J., AMOR M.J. & RIBES E., 1990. Ultraestructura del epitelio vibrátil de los gonoductos de *Tapes decussatus* y *Tapes semidecussatus*. *Actas III Congreso Nacional de Acuicultura*: 587-592.
- FIORONI P., OEHLMANN J. & STROBEN E., 1990. Le pseudoher-

- maphroditism chez les Prosobranches; analyse morphologique et histologique. *Vie et Milieu*, **40** (1): 45-56.
- FRETTER V., 1941. The genital ducts of some British Stenoglossan Prosobranchs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **25**: 173-211.
- FRETTER V. & GRAHAM A., 1994. *British Prosobranch Molluscs. Their functional anatomy and ecology*. The Ray Society, London, 765 pp.
- GRASSÉ P.P., 1968. *Traité de Zoologie*. T.V. Fasc. **3**, Masson et Cie, Paris, 919 pp.
- HOUSTON R.S., 1976. The Structure and Function of Neogastropod Reproductive Systems: with Special Reference to *Columbella fuscata*, Sowerby, 1832. *The Veliger*, **19** (1): 27-46.
- HYMAN L.H., 1967. *The Invertebrates. Volume VI: Mollusca: Aplacophora, Polyplacophora, Monoplacophora, Gastropoda*. York, McGraw-Hilland, New York, 550 pp.
- JONG-BRINK M., DE BOER H.H., & JOOSSE J., 1983. *Reproductive Biology of Invertebrates. Mollusca. Vol. I. Oogenesis, Ovoposition and Oosorption*. In ADIYODI K.G. and ADIYODI, R.G., John Wiley & Sons, New York, 770 pp.
- MARTÍN P., SÁNCHEZ P. & RAMÓN M., 1995. Population structure and exploitation of *Bolinus brandaris* (Mollusca: Gastropoda) of the Catalan Coast (North-western Mediterranean). *Fish Research*, **23**: 319-331.
- OEHLMANN J., STROBEN E. & FIORONI P., 1988. Zur anatomie und histologie des fortpflanzungssystems von *Nucella lapillus* (L., 1758) (Prosobranchia: Stenoglossa). *Zoologischer Anzeiger*, **221** (3-4, S): 101-116.
- OEHLMANN J., FIORONI P., STROBEN E. & MARKET B. 1996. Trybutyltin (TBT) effects on *Ocynebrina aciculata* (Gastropoda: Muricidae): imposex development, sterilization sex change and population decline. *The Science of the total Environment*, **188**: 205-222.
- PONDER W.F., 1973. The origin and evolutions of the Neogastropoda. *Malacologia*, **12** (2): 295-338.
- SCHULTE-OEHLMANN U., FIORONI P., OEHLMANN J. & STROBEN E., 1994. The genital system of *Marisa cornuaretis* (Gastropoda Ampullaridae) -a morphological and histological analysis. *Zoologische Beiträge N.F.*, **36** (1): 59-81.
- SRILAKSHMI G., 1991. Histological and Histochemical Studies on the Female Reproductive System of *Morula granulate* (Duelos) (Prosobranchia Neogastropoda. *Zoologischer Anzeiger*, **226** (1-2, S): 71-87.
- WEST D.L., (1979). Reproductive Biology of *Colus simposi* (Prosobranchia: Buccinidae)-III Female Genital System. *The Veliger*, **21** (4): 432-438.