



FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION
OF THE UNITED NATIONS

ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR
L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE

ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS
PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION

CARPAS/6/74/SE 18
Octubre 1974

S

SIMPOSIO FAO/CARPAS SOBRE ACUICULTURA EN AMERICA LATINA

Montevideo, Uruguay

26 de noviembre al 2 de diciembre de 1974

ESTUDIO HISTOLOGICO COMPARATIVO DE LOS CICLOS GONADICOS DE
Ostrea corteziensis HERTLEIN, Crassostrea virginica GMELIN, Crassostrea iridescens HANLEY

por

Ma. F. Ruiz Durá
Subsecretaría de Pesca
México, D.F.

Indice

1. INTRODUCCION
2. MATERIAL Y METODOS
3. RESULTADOS
 - 3.1 Anatomía de las gónadas
 - 3.2 Ciclo gonádico de Ostrea corteziensis
 - 3.3 Ciclo gonádico de Crassostrea virginica
 - 3.4 Ciclo gonádico de Crassostrea iridescens
4. CONCLUSIONES

WM/GO276

Extracto

El presente trabajo analiza a nivel histológico los ciclos gonádicos de las tres especies de ostras comerciales de México, Crassostrea virginica Gmelin, C. iridescens Hanley, ambas ovulíparas, y Ostrea corteziensis Hertlein, larvípara. De los estudios realizados resulta que en las tres especies los períodos de máxima actividad gametogénica coinciden a principios de primavera y presentan tres períodos de actividad, con sólo dos ovulaciones ya que en la tercera gametogénesis, de agosto a octubre, no se produce normalmente desove por el descenso de la temperatura. Se señala la presencia de gránulos de secreción en el conectivo que rodea a las glándulas y cuya aparición coincide con la de los productos sexuales. Los cambios en las gónadas de los machos son menos marcados que en las hembras y sólo se observa una completa reabsorción del epitelio germinativo en los meses de diciembre a febrero. Sólo en O. corteziensis se denotó un bajo porcentaje de hermafroditismo en el mes de septiembre.

Abstract

This paper analyses at an histological level, the gonadic cycle of the three Mexican commercial species of oysters: Crassostrea virginica Gmelin, C. iridescens Hanley, both oviparous, and Ostrea corteziensis Hertlein, larviparous. On the basis of studies made it is shown that the period of maximum gametogenesis activity in the three species coincide with the commencement of spring, and in addition there are three activity periods with only two ovulations, as the third gametogenesis occurring from August to October, does not normally result to any spawning because of the decrease in water temperature. The presence of secretion granules in the connective tissue that surrounds the glands, whose appearance coincide with that of sexual products, is pointed out. The changes in the gonads of the males are less apparent than in the females, and a complete reabsorption of the germinative epithelium can be observed only from December to February. Only O. corteziensis showed a low percentage of hermaphroditism during the month of September.

1. INTRODUCCION

Uno de los aspectos técnicos fundamentales en el cultivo de las especies, es determinar la época de la reproducción, la fecundidad, el número y tiempo de los desoves en base a programar la captura de las larvas.

Dado que en nuestro país son tres las principales especies comerciales y en las que de hecho descansa el Programa Nacional de ostricultura, interesa establecer de una manera integral y comparativa, el ciclo gonádico de estas especies, que son: Ostrea corteziensis, Hertlein 1951, Crassostrea virginica, Gmelin 1795 y Crassostrea iridescens, Hanley 1854.

Se consideró de importancia para determinar el proceso evolutivo que sufren las gónadas y las células germinales, la interpretación microscópica de las variaciones cualitativas y cuantitativas de las células sexuales de ambos sexos en un ciclo anual, logrando establecer el ciclo sexual y algunos aspectos de la fisiología de la reproducción de las especies que se describen.

2. MATERIAL Y METODOS

El muestreo se hizo al azar en poblaciones adultas de 1 a 3 años de edad, tomando 20 ejemplares mensuales de cada una de las especies. El material interpretado a nivel histológico, en relación al número de ejemplares por mes fué de un 64,2 por ciento. La frecuencia del muestreo de las tres especies, hace un total de 255 especímenes de O. corteziensis, de

la Bahía de Las Guásimas, Sonora recolectados entre junio de 1968 y julio de 1969; 240 ejemplares de C. virginica, de la Laguna de Pueblo Viejo, Veraerna recolectados durante 1968 y 246 ejemplares de C. iridescens, obtenidos entre junio de 1968 y julio de 1969 de la localidad Bahía de la Ventosa, Salina Cruz, Oaxaca.

Para la fijación de las muestras de C. iridescens y O. corteziensis, se emplearon tres diferentes líquidos fijadores: Bouin, alcohol 70° y formol al 10 por ciento, mientras que todas las muestras de C. virginica fueron preservadas en formol al 10 por ciento. Los ejemplares no estudiados se conservaron en alcohol de 70° y formol al 10 por ciento.

Previo procesado para inclusión en parafina, cada ejemplar se seccionó en tres partes: anterior, media y posterior. Mediante este procedimiento se estudió la anatomía del espécimen y estructura de la gónada, y fue posible observar la disposición morfológica constante de referencia, como base para su posterior interpretación histocitológica. Una vez procesado el material, los bloques incluidos en parafina, se seccionaron transversalmente en cortes seriados que oscilaron entre 6 a 8 μ .

Las técnicas de tinción empleadas fueron hematoxilina Harris - eosina para la descripción general histocitológica. El método de Romeis a base de hematoxilina férrica de Heidenheim se usó para identificación de cromatina en las células sexuales. Para demostración del tejido conjuntivo, muscular y elementos de secreción, las técnicas que permitieron mejores resultados fueron las triocrómicas de Mallory y Masson.

Se determinaron cada uno de los tejidos y estructuras que componen la unidad glandular, tomando en cuenta los caracteres de:

- (i) abundancia y distribución del tejido conectivo interfolicular;
- (ii) características, disposición y cantidad de elementos sexuales en los folículos;
- (iii) aspecto de la cromatina en las diferentes fases de la gametogénesis.

Se verificó un estudio de la anatomía de las gónadas, comparada entre las especies ovíparas, C. virginica y C. iridescens y la especie larvípara O. corteziensis. Con objeto de relacionar los cambios gonádicos con tiempo y talla relativa de las células sexuales, se llevaron a cabo mediciones de ovocitos y óvulos en diferentes ejemplares de las tres especies, correspondientes a las etapas pre-reproductiva y reproductiva. Los promedios de talla obtenidos para cada mes, fueron el resultado de la medida del diámetro mayor de 100 células sexuales femeninas de los cortes más demostrativos de la parte media y posterior de la gónada. Los valores así obtenidos establecieron comparativamente la relación de la cantidad vitelo entre aquellas especies ovíparas y larvíparas (Cuadro I y Figura 1).

3. RESULTADOS

3.1 Anatomía de las gónadas

Para la exposición de los resultados de este estudio consideramos necesario establecer previamente una descripción somera de la anatomía de las gónadas, como base para describir los mecanismos de ovulación y eyaculación en las especies estudiadas.

Las gónadas se originan de un grupo de células mesenquimatosas que hacen su aparición aproximadamente a las ocho semanas, después de realizada la fijación de la larva (Coe, 1932). A las 12 semanas la gónada todavía consta de pocas células que posteriormente van aumentando de número, hasta que se constituye un órgano pareado que se fusiona al llegar al estado adulto. Este órgano está formado por un gran número de túbulos ramificados, entre los cuales se desarrolla un tipo de tejido laxo y reticular. Las gónadas no están encapsuladas pero se encuentran rodeadas hacia el lado interno por un epitelio superficial. Al madurar sexualmente el organismo, los diámetros de los túbulos aumentan gradualmente hasta converger en el gonoducto.

CUADRO I

Medición de Ovíulos

Fecha de muestro	No. de cortes observados	No. de óvulos	Promedio de talla en micras
<u>Crassostrea iridescens</u> Salina Cruz, Oaxaca			
7 febrero	5	100	44,56
6 marzo	6	100	44,72
9 abril	5	100	47,24
8 mayo	6	100	45,36
12 junio	6	100	47,08
9 julio	5	100	46,84
13 agosto	6	100	40,36
13 septiembre	6	100	39,60
13 octubre	6	100	35,76
<u>Crassostrea virginica</u> Laguna de Pueblo Viejo, Veracruz			
21 marzo	4	100	40,00
20 abril	3	100	44,00
20 mayo	3	100	37,66
20 junio	3	100	38,80
21 julio	3	100	47,50
21 agosto	4	100	38,80
21 septiembre	3	100	41,00
21 octubre	3	100	43,10
<u>Ostrea corteziensis</u> "El Tapón" Bahía de Las Quásimas, Sonora			
17 abril	6	100	15,80
24 mayo	5	100	41,60
19 junio	5	100	55,50
19 julio	6	100	56,10
17 agosto	6	100	51,70
23 septiembre	5	100	57,60
25 octubre	5	100	42,10

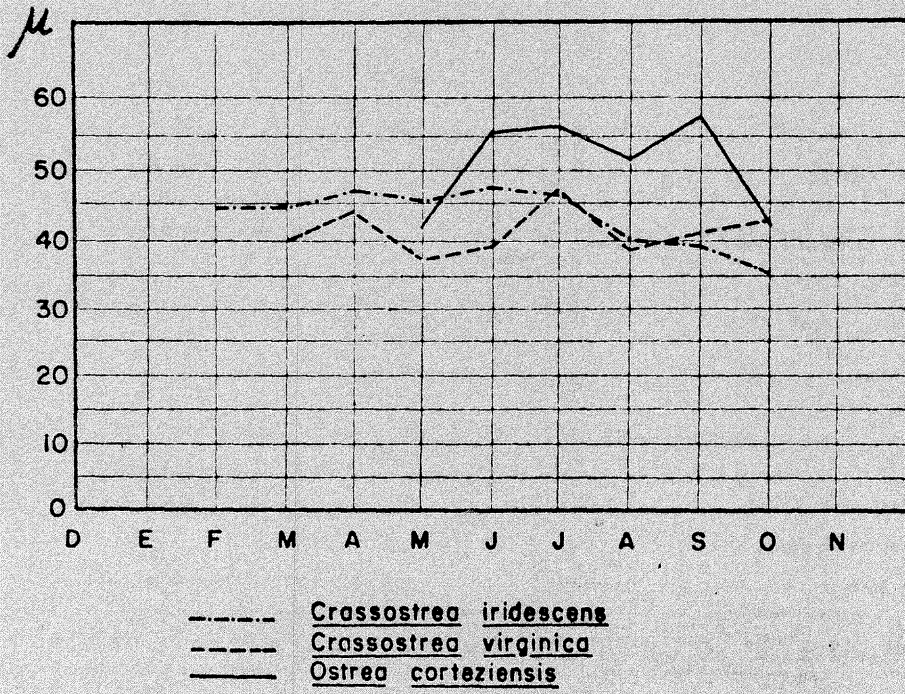


Figura 1. Cuadro comparativo del tamaño de los ovulos

En los individuos sexualmente maduros de C. virginica, la gónada aparece como un sistema de túbulos ramificados, que se dirigen a lo largo de la porción dorsal hasta formar una estructura continua que acompaña a la masa visceral y se extiende ventralmente hasta el nivel del proceso pilórico (Galtsoff, 1937).

Las gónadas de C. iridescens correspondientes a individuos inmaduros, están formadas por dos lóbulos desiguales que sitúan inmediatamente debajo del manto, el izquierdo más voluminoso que el derecho. Los lóbulos se extienden desde el margen posterior de los palpos labiales hasta la cavidad pericardíaca (Rogers, 1970). Cuando alcanza su madurez sexual, ambos lóbulos se fusionan. La porción dorsal de la gónada sigue el contorno del recto, mientras que la porción ventral envuelve el intestino medio. La gónada aumenta de tamaño, el epitelio se distiende y se pueden observar fácilmente los canales genitales, cuyo diámetro se incrementa gradualmente hasta desembocar a los gonoductos, éstos a su vez se abren a la cámara suprabranquial que se encuentra colocada ventralmente al músculo abductor posterior.

En O. corteziensis, los individuos sexualmente maduros, presentan las gónadas con sus túbulos ramificados que se van anastomosando a lo largo de la región dorsal, formando una capa condensada y gruesa que invade la masa visceral; la glándula presenta una coloración blanco-amarillenta.

Galtsoff (1937) señala que existen notables variaciones sobre la talla gonádica, observada en ejemplares de la misma localidad y época del año; sin embargo, en general se puede determinar debido a las observaciones realizadas, que el grosor de las gónadas aumenta en relación directa a la edad del espécimen, grado de evolución de las mismas y a la cantidad de células capaces de ser producidas por cada temporada.

Según Kennedy (1963), la mayoría de las ostras son hermafroditas proterándricas, presentando una secuencia rítmica en la alternancia de sexos, por lo que la gónada es potencialmente bisexual. El aspecto histológico de la gónada varía de acuerdo con la edad del espécimen, grado de madurez, estación del año y la acción de algunos factores ecológicos (Galtsoff, 1964).

3.2 Ciclo gonádico de Ostrea corteziensis

3.2.1 Etapa I Inactividad o indiferenciada. Se presenta en esta especie durante los meses de diciembre a febrero. Las glándulas sexuales examinadas en esta fase se caracterizan por su apariencia flácida, delgada e incolora.

A nivel histológico las gónadas están formadas por un sistema de estructuras tubulares y contorneadas denominadas folículos, los cuales debido al acercamiento de sus paredes, obliteran su luz. Entre los folículos existe una gran masa de tejido conectivo, laxo y reticular que ocupa la casi totalidad de la glándula y en ocasiones está desgarrado. Es característico en esta etapa la presencia de células de pequeño tamaño, con citoplasma granuloso y núcleo excéntrico (Galtsoff, 1964) llamados amibocitos, que se van insinuando hasta los conductos; parece ser que su función es la destrucción de las células residuales que se localizan en los conductos.

3.2.2 Etapa II Prereproductiva o de maduración. Compreendida entre los meses de marzo a mayo. A partir del mes de marzo los sexos ya pueden diferenciarse. El epitelio germinal, se observa activo y muestra distintas etapas de gametogénesis, pudiéndose distinguir células en estado de oogonias y ovocitos de primero y segundo orden, que se distinguen por la diferencia de tamaño y la apariencia de la cromatina nuclear.

En base a las observaciones realizadas se pudo determinar la gran abundancia de oogonias en plena etapa mitótica, así como la presencia de ovocitos de primer orden, de mayor tamaño. Mediante la técnica de Masson se pudo identificar con más claridad la citología de estos elementos sexuales. Las oogonias presentaron forma cúbica por la presión directa de las células contiguas; su citoplasma, muy aparente, se observó homogéneo y el

núcleo alargado con la cromatina compacta. Los núcleos de los ovocitos de primer orden son más grandes, esféricos y de aspecto vesiculoso, con citoplasma granular. Las observaciones realizadas permitieron determinar la posición de los ovocitos de segundo orden dirigidos hacia el lumen, por lo que adquieren una forma alargada con uno de sus extremos adherido al epitelio germinal. La talla promedio de estas células durante el mes de mayo fué de 41,6 μ . Los óvulos maduros se observaron desprendidos de la pared del folículo para su expulsión posterior.

En los individuos machos las fases son más difíciles de identificar, pues el epitelio germinal está en constante actividad, sólo varía el grosor de dicho epitelio. En ocasiones, se pudieron distinguir las distintas etapas de la espermatogénesis. Se pudo detectar que las espermatogonias proliferan más rápidamente que las ogonias. El tejido conectivo va disminuyendo conforme avanza esta etapa y los ambocitos desaparecen.

A finales de esta etapa se pudieron identificar, con la técnica hematoxilina-eosina, algunos elementos de secreción en forma de gránulos; dispuestas entre el tejido conectivo intersticial.

3.2.3 Etapa III Reproductiva o de desove. Comprende los meses de junio a octubre. Durante esta etapa las células sexuales alcanzan su definitiva maduración y los fenómenos de desove se presentan en forma gradual y sincrónica.

La ostra no expulsa todo su contenido de gametos en una sola vez. Loosanoff (1958) reporta que generalmente el desove se prolonga por varios días o semanas.

La etapa reproductiva se ha subdividido arbitrariamente en fases características, que presentan variaciones fisiológicas tales como: desove parcial, actividad celular y desove avanzado.

(a) Desove parcial: abarca los meses de junio y julio. En individuos hembras, esta fase se reconoce fácilmente por la distribución característica de los óvulos dentro de los folículos. Algunos conductos se observan vacíos y semicontraídos por la expulsión parcial de óvulos; otros folículos contienen células maduras residuales de forma poligonal o de clava, identificados como óvulos dispuestos en pequeños grupos. Los promedios de talla de óvulos para el mes de julio son de 56,1 μ .

Los machos presentan los folículos contraídos y semivacíos; el epitelio germinal se observa engrosado con distintas etapas de espermiogénesis.

(b) Actividad celular y desove avanzado: estos fenómenos se presentan simultáneamente en el período final de la época reproductiva. Las células sexuales femeninas que están madurando, se disponen en paquetes dirigidos hacia la luz de los folículos para provocar el desove total. Los óvulos correspondientes al mes de julio alcanzan una talla de 56,1 μ . En algunos cortes de ejemplares correspondientes al mes de julio, fué posible identificar algunas fases de segmentación del huevo a nivel del tejido conjuntivo de los palpos labiales (Figura 2). Durante el mes de agosto y septiembre se produce un nuevo fenómeno inductor de proliferación y crecimiento celular que dá como resultado una segunda acumulación de óvulos maduros con tallas que fluctúan entre 51,7 a 57,6 μ .

En O. corteziensis el desove avanzado se observa durante el mes de septiembre, concluyendo durante el transcurso de la primera quincena del mes de octubre; sin embargo en ambos sexos, algunos individuos correspondientes al mes de octubre presentaron todavía signos de actividad celular o principios de una tercera gametogénesis. En este mes fué posible identificar una larva velígera típica de esta especie, localizada entre el tejido del manto (Figura 3).

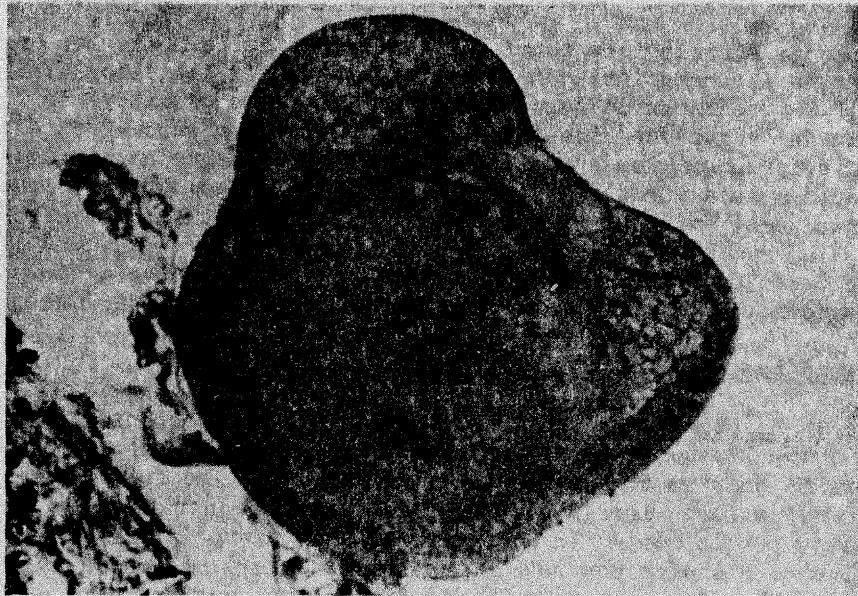


Figura 2. Ostrea corteziensis. Segmentación del huevo, localizado a nivel de los palpos. Mes de julio. 1160 X



Figura 3. Ostrea corteziensis. Larva. Mes de agosto. 640 X

3.2.4 Etapa IV Post-reproductiva o post-desove. Observada durante la segunda quincena de octubre, al mes de noviembre. A medida que el desove llega a su fin, los conductos presentan una gran contracción, pues el epitelio germinal se reabsorbe y las células amiboides fagocitan a las células residuales; estas células amiboides o amibocitos invaden el tejido conjuntivo y se insinúan en los conductos (Galtsoff, 1964).

Los cortes histológicos correspondientes al mes de noviembre, muestran células remanentes en vías de degeneración, con aparente deformación del citoplasma y pérdida de la membrana nuclear. La presencia de fagocitos y los fenómenos de citolisis son más aparentes en la región media de la gónada. Los folículos se reabsorben y colapsan desde la región anterior a la posterior adquiriendo una forma elongada hasta que su luz desaparece. Durante esta etapa sólo quedan masas celulares amorfas e indiferenciadas, entre las cuales prolifera el tejido conectivo laxo, así como numerosos amibocitos y células hialinas.

El fenómeno de activación se interrumpe por el descenso de temperatura que ocurre en la época de invierno. Los gametos se originan nuevamente a partir del mes de marzo.

3.3 Ciclo gonádico de Crassostrea virginica

3.3.1 Etapa I Inactividad o indiferenciada. Para esta especie la etapa de inactividad está comprendida entre los meses de diciembre a principios de febrero. Durante este período la gónada se presenta como un órgano flácido, delgado, con los folículos alargados, esféricos o en ocasiones de forma irregular; sus paredes se ven contraídas y se aproximan hasta ponerse en contacto, por lo que su luz desaparece. El número de los conductos se reduce a una serie de folículos aislados por tejido conjuntivo laxo y reticular que algunas veces se observa desgarrado. El epitelio germinal está formado por escasas células indiferenciadas dispuestas en una sola capa. Entre el tejido germinal y el conjuntivo se insinúan numerosas células de citoplasma acidófilo, cortas prolongaciones y núcleo pequeño, llamadas amibocitos (Galtsoff, 1964), el tamaño de estas células varía entre 4 y 8 μ . Se distinguen también entre el tejido conjuntivo otras células de menor tamaño con su citoplasma acidófilo homogéneo y núcleo excéntrico llamadas células hialinas.

A mediados de febrero, ya se pueden distinguir células femeninas o masculinas en estado de gonias y el inicio de la etapa pre-reproductiva o de maduración.

3.3.2 Etapa II Pre-reproductiva o de maduración. Esta etapa comprende desde la segunda quincena de febrero al mes de abril. La gónada, debido a su aumento progresivo de tamaño se va acercando al aparato digestivo. A medida que avanza este período, los folículos se anastomosan y se puede notar el inicio de la actividad del epitelio germinativo. En los machos, durante esta fase puede observarse un engrosamiento en la periferia de los folículos y las células en diferentes estados de espermatogénesis. Las espermatogonias forman un estrato bien definido que facilita el reconocimiento de este período.

Las hembras presentan los folículos engrosados. Las oogonias muestran una constante actividad mitótica y cubren el epitelio germinal. La transición de las oogonias a ovocitos se denota por la aparición de sus núcleos. En el caso de las oogonias son pequeños y ovoides y en los ovocitos son grandes, esféricos y más notables. El citoplasma también sufre cambios; en las oogonias, es basófilo y se va haciendo ligeramente acidófilo y granuloso en los ovocitos, lo que indica la acumulación del vitelo (Kennedy y Battle, 1963). El tamaño de los ovocitos fluctúa entre 40 y 44 μ , correspondiendo a los meses de marzo y abril respectivamente.

El número de células que maduran dentro de los folículos es de 1 a 3 y ocupan la totalidad del lumen; pero a medida que la fase pre-reproductiva concluye, las células maduran en mayor número, aumentando el tamaño de los conductos. El tejido conectivo es aún abundante y casi no se observa desgarrado, los amibocitos y células hialinas son menos numerosas que en la etapa anterior.

3.3.3 Etapa III Reproductiva o de desove. La etapa reproductiva llamada de desove en las hembras, ocurre durante los meses de mayo a mediados de agosto. Se caracteriza por el aumento definitivo de la glándula y la maduración de las células sexuales. En comparación con el período anterior, existe un mayor número de células femeninas maduras que alcanzan un tamaño hasta de 47,5 μ , este valor correspondiendo al promedio de talla mayor registrado durante el ciclo (Figura 4).

Tanto en hembras como en machos, el proceso reproductivo es gradual y prolongado. Existe una alternancia de fenómenos de desove con actividad del epitelio germinal, debido a ésto la etapa reproductiva se puede estudiar en sub-etapas: desove parcial, actividad celular y desove avanzado.

(a) Desove parcial: se observa durante el mes de mayo; en esta época todavía la glándula es pareada y el epitelio germinal se muestra activo, observándose distintas etapas de gametogénesis. El desove parcial es fácil de reconocer en individuos hembras. Los cortes histológicos muestran los folículos parcialmente vacíos y los óvulos maduros se han desprendido de las paredes. El tamaño de estas células es de 37,6 μ . Los conductos se observan semicontraídos y algunos amibocitos se encuentran en las cavidades. El tejido conectivo en ocasiones está desgarrado y entre sus células se observan irregularmente dispuestas algunas estructuras en forma piriforme o redondeada que contienen numerosos gránulos, que por su apariencia y apetito tintóreo fueron determinados como elementos de secreción. Durante toda esta etapa el epitelio germinal está activo y hay constante producción de espermatozoides, que presentan gran afinidad por la hematoxilina.

(b) Actividad celular y desove total: se presenta en los individuos estudiados durante los meses de julio a octubre. Esta fase se puede reconocer por el marcado aumento de talla de la gónada. Las cavidades foliculares se ensanchan y sus paredes se adelgazan quedando en contacto una con otra. El tejido conectivo se reabsorbe.

En las hembras, el epitelio germinal presenta algunas células en estado de ovocitos de primero y segundo orden. La mayoría de las células han madurado, algunas se encuentran adheridas por una de sus porciones a la pared folicular, mientras otras se han desprendido y ocupan el lumen. Los óvulos presentan un promedio de talla de 47,50 μ ; su citoplasma es granuloso, el núcleo es vesicular y algunas veces es homogéneo. A medida que este período avanza y el desove se lleva a cabo, el tamaño de los folículos va decreciendo y el promedio de talla de los óvulos disminuye, con un valor para los meses de agosto y septiembre de 38,8 y 41,0 μ respectivamente.

En *C. virginica*, el desove avanzado ocurre de la segunda quincena de julio a octubre. Durante los meses de septiembre y octubre, aunque los individuos ya han desovado, el epitelio germinal muestra signos de actividad. Se pueden observar ovocitos de primero y segundo orden y células maduras residuales dentro de los folículos que han disminuido considerablemente su tamaño.

En los individuos machos el proceso no es tan aparente como en las hembras. Dentro de los folículos se pueden observar grandes masas de espermatozoides maduros dirigidos hacia el lumen. El epitelio germinal que se observa engrosado, muestra todos los estados de espermatogénesis, en forma semejante a lo señalado por Kennedy y Battle (1964). Las observaciones indican que el fenómeno de eyacuación comprende varios días o semanas de acuerdo con lo escrito por Lissanoff (1964).

Al final de esta etapa es posible observar algunos folículos con espermatozoides residuales. El tejido conectivo prolifera, aunque en ocasiones se observa desgarrado. Los amibocitos se insinúan dentro de los conductos, que a su vez van disminuyendo su luz a causa de la contracción de sus paredes. Los gránulos de secreción dispuestos dentro de estructuras redondas o piriformes, se localizan entre el tejido conjuntivo. Con la técnica de hematoxilina-eosina se tiñeron de color pardo-verdoso. Al final de esta etapa, los conductos se elongan y se colapsan.

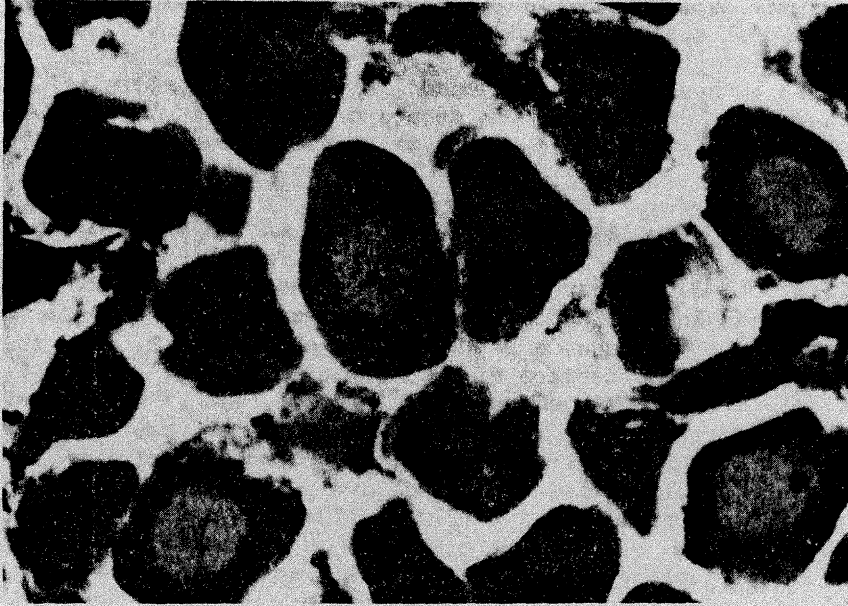


Figura 4. Detalle de óvulos maduros de *Crassostrea virginica*, correspondiente al mes de junio. 1160 X

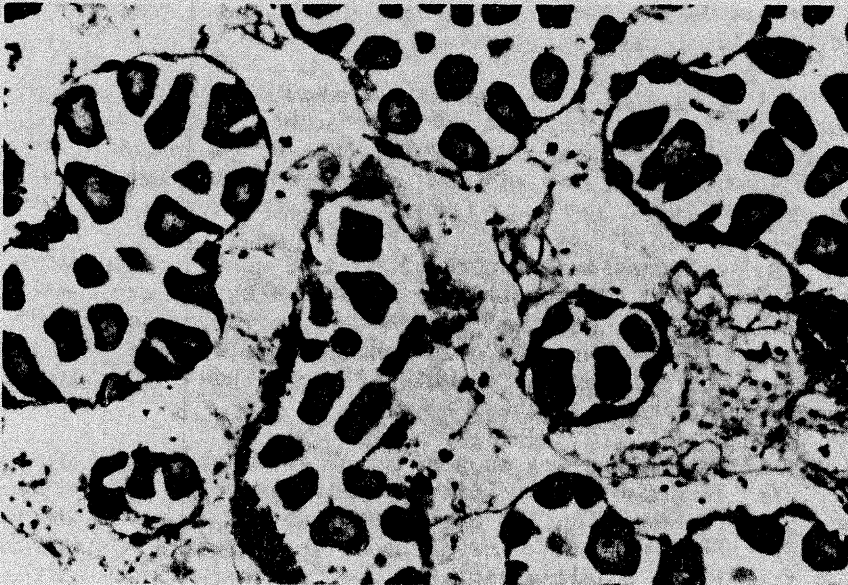


Figura 5. *Crassostrea iridescens*. Etapa pre-reproductiva. Mes de marzo. Se observan folículos maduros con distintas etapas de ovogénesis, el tejido conectivo se ve desorganizado. 252 X

3.3.4 Etapa IV Post-reproductiva o post-desove. Observada para este estudio durante el mes de noviembre. A medida que termina el desove, los individuos presentan una reducción en tamaño de la gónada y los folículos se contraen por completo obliterando su luz. El tejido conectivo se desgarrar y numerosos amibocitos y células hialinas se observan insinuándose entre los conductos; la función de los fagocitos es destruir los gametos residuales. Las células remanentes que se encuentran en algunos túbulos, presentan fenómenos de degeneración, tales como plasmolisis y pérdida de membrana nuclear. El tejido conectivo prolifera al máximo cuando esta etapa concluye. La gónada se observa en un conjunto de folículos pequeños y obliterados en los que es imposible reconocer los sexos.

3.4 Ciclo gonádico de *Crassostrea iridescens*

3.4.1 Etapa I Inactividad o indiferenciada. Determinada para esta especie durante los meses de diciembre a la primera quincena de febrero. Los ejemplares estudiados presentan sexo indiferenciado. En esta fase el tejido conectivo interfolicular se desarrolla en tal forma que llega a ocupar la totalidad de la glándula; en este tejido se insinúan células sanguíneas hialinas (Galtsoff, 1964), con núcleo generalmente desplazado y citoplasma granuloso eosinófilo, cuyo tamaño varía entre 2,5 u 4,0 μ . Los folículos son escasos, colapsados y presentan un epitelio germinal inactivo; en el tejido conectivo intersticial también se observan abundantes amibocitos con citoplasma granuloso acidófilo, núcleos excéntricos y proyecciones citoplásmicas.

Hacia el final del mes de enero, en algunos ejemplares las gónadas se caracterizan por presentar los conductos sexuales en forma de vesículas contraídas y vacías; sin embargo, en otros se observó el epitelio germinal en principio de actividad gametogénica. Entre el tejido conectivo vesicular todavía abundante, se identifican algunas estructuras acidófilas de secreción.

3.4.2 Etapa II Pre-reproductiva o maduración. Comprendida durante la segunda quincena de febrero y la primera de abril. Los ejemplares estudiados durante esta etapa pueden ya diferenciarse sexualmente. El sexo se determinó en todos los especímenes por la presencia de gonias; ovocitos y espermatocitos respectivamente.

Los ejemplares hembras correspondientes al mes de marzo mostraron los folículos de mayor tamaño y caracterizados por un epitelio germinal activo con gran cantidad de oogonias pequeñas (12 μ) y ovocitos adheridos a la pared del folículo; así como por la presencia de escasos óvulos dispuestos hacia el lumen del conducto (Figura 5). El tejido conectivo se observó aún abundante con menor número de amibocitos. Algunas células hialinas se presentan en esta fase.

En los ejemplares machos se observó la espermatogénesis muy marcada, predominando las espermatogonias, que se observaron redondas con citoplasma homogéneo, núcleo grande, esférico y con cromatina granulosa. En las muestras correspondientes al mes de abril, se observó en los individuos machos el fenómeno de gametogénesis más avanzado. En algunos conductos se reconocen espermatocitos de segundo orden, pero puede decirse que el 50 por ciento de las células se encuentran en fase de espermatidas, determinadas por su tamaño y marcada basofilia. La mayoría de los conductos presentan en este momento, gran cantidad de espermatozoides aglutinados que invaden todo el lumen dispuestos a ser expulsados. En la porción posterior los folículos o conductos sexuales se vieron aumentados de tamaño y anastomosados con sus membranas basales en íntima relación.

En una fase más avanzada los ovocitos pudieron identificarse por su citoplasma denso con uno o dos nucleólos, además se detectaron numerosos óvulos totalmente maduros con talla promedio de 44,8 μ aglutinados en centro del conducto. Durante este mes, los gránulos de secreción fueron más numerosos y aparentes, con la técnica de hematoxilina-eosina presentaron una coloración acidófila. Su disposición en forma de paquetes es característica. En ambos sexos, pero con mayor frecuencia en especímenes hembras, se observó que estos elementos se organizan en forma de cuerpos compactos cuboides en la periferia interna de los folículos, en íntimo contacto con las células sexuales que en este momento se encuentran adheridas a la membrana basal.

Probablemente estos productos de secreción se originan a partir del tejido conectivo intersticial y posteriormente se proyectan hacia los conductos o folículos; ya que su aparición y distribución está en relación directa con la época de diferenciación de las células sexuales. Por otra parte se estima también la posibilidad de que dichos gránulos se originen a partir de algunas células secretoras del epitelio germinal, que en un momento dado, pierden su membrana y vacían su contenido.

En la mayoría de los ejemplares observados, el incremento de la gónada determina un estrecho contacto con el hepatopáncreas.

3.4.3 Etapa III Reproductiva o de desove. Se extiende desde la segunda quincena de abril hasta la primera de agosto. Esta etapa puede dividirse arbitrariamente para su estudio en dos períodos; desove parcial y desove total.

(a) Desove parcial: comprende desde la segunda quincena de abril hasta la primera de mayo. En las hembras, la gónada durante este período aumenta en tamaño, observándose los folículos estrechamente unidos. El tejido conectivo se reabsorbe y en ocasiones no presenta su organización característica. Los óvulos que se desprenden de las paredes del folículo alcanzan el valor máximo en promedio de la talla registrada durante el ciclo gonádico que corresponde a 47,2 μ , para el mes de abril. Durante mayo el valor promedio fue de 45,3 μ . Se observaron amibocitos que invaden la glándula hasta insinuarse dentro de los conductos. Al presentarse el desove parcial los folículos quedan semicontraídos, pero a diferentes niveles de la gónada se reconocieron células maduras residuales en forma poliédrica o de olava, dispuestas en grupos compactos. Los óvulos presentan uno o dos nucléolos alcanzando un promedio de tallas de 46,9 μ .

En los machos el epitelio germinal es más grueso en el mes de abril. Se pueden distinguir las distintas etapas de espermatogénesis y numerosos espermatozoides dispuestos hacia la luz, listos para ser expulsados. Los folículos se contraen parcialmente al final de la primera eyaculación.

Ambos sexos presentaron una marcada actividad mitótica durante los meses de junio a julio. La presencia de gránulos de secreción es más numerosa que en las etapas anteriores. Entre los folículos se observan numerosos amibocitos. En este momento la gónada alcanza su máxima madurez y se insinúa hasta la región de la glándula digestiva, que se encuentra separada sólo por una delgada capa de tejido conectivo vesicular.

(b) Desove total: comprende desde la segunda quincena de julio hasta la primera de agosto. En este período las gónadas mostraron las características de un desove total determinada por la expulsión de los productos sexuales y en consecuencia por la regresión del diámetro de los folículos.

Los óvulos correspondientes al mes de julio presentaron el citoplasma ocupado casi en su totalidad por el núcleo, que tiene de uno a dos nucléolos; el tamaño de los óvulos es de 46,8 μ (Figura 5). La mayoría de los ejemplares observados mostraron los folículos rotos, contraídos, con numerosos gránulos acidófilos agrupados en paquetes de forma cúbica o poligonal y con algunas células sexuales residuales en vías de degeneración. Durante el mes de agosto la mayoría de los folículos presentaron sólo dos o tres óvulos residuales, cuyo promedio de talla fue de 40,3 μ . En este momento los gránulos de secreción ocupan la casi totalidad de los conductos sexuales, y el tejido conectivo intersticial se insinúa entre los folículos predominando sobre el tejido reproductor.

En los machos el fenómeno es semejante pero el epitelio germinal muestra nuevos signos de actividad gametogénica. El tamaño de la glándula disminuye. Los folículos están contraídos y algunos espermatozoides residuales se observan en el lumen. La invasión del tejido conectivo se observa sobre todo en la periferia de la gónada. Durante el mes de septiembre se observa en algunos ejemplares nuevos fenómenos de actividad. Se pueden reconocer espermatogonias y ovocitos de primero y segundo orden, adheridos a las paredes de los

conductos y algunos óvulos o espermatozoides dirigidos hacia el lumen. El promedio de talla de los óvulos alcanza 40,2 μ . Esta nueva gametogénesis se puede interpretar como resultado del brusco ascenso de la temperatura registrada en este mes.

3.4.4 Etapa IV Post-desove. Se manifiesta durante el mes de noviembre. A medida que esta etapa avanza, los folículos se hacen más reducidos en número y tamaño, las paredes se fusionan perdiéndose la luz de los conductos. El tejido conectivo prolifera ocupando casi la totalidad de la glándula. El número y tamaño de los folículos disminuye, pudiendo reconocerse en algunos ejemplares, restos de células residuales. Los gránulos de secreción y los amibocitos aumentan a medida que la glándula involuiona. A finales del mes de noviembre la glándula se reaborse al máximo y queda representada por el epitelio germinal inactivo.

4. CONCLUSIONES

Se estudia a nivel histológico las gónadas y células sexuales de las especies C. virginica, C. iridescens, y O. corteziensis, para establecer el ciclo gonádico dividido en 4 etapas en un período anual.

Comparando los cambios gonádicos en relación con las estaciones del año, se puede concluir en términos generales que la evolución gonádica de las especies larvípara O. corteziensis y las ovíparas C. virginica y C. iridescens son similares ya que la máxima actividad gametogénica acontece a mediados de primavera mientras la reabsorción e involución gonádica, se verifica dentro del invierno.

El exámen histológico de una generación de individuos adultos de C. virginica, C. iridescens y O. corteziensis indica que encontramos hembras en estado de madurez más avanzado, a partir de la segunda quincena de abril y durante el mes de mayo.

De acuerdo con las observaciones microscópicas, las especies tratadas presentan tres períodos de actividad gametogénica, que acontecen en forma sinorónica precediendo al desove parcial y desove total. La tercera gametogénesis es de corta duración, menos activa que las anteriores y se interrumpe por el descenso de temperatura sin culminar en desove.

La primera gametogénesis, ubicada en la etapa II, en C. virginica se presenta durante la segunda quincena de febrero hasta finales de abril, mientras en C. iridescens ocurre de la segunda quincena de febrero hasta la primera quincena de abril. En O. corteziensis, se observa durante los meses de marzo a mayo.

La segunda gametogénesis, ubicada en la etapa III inmediata al desove parcial, acontece en el mes de junio en C. virginica; en C. iridescens se identifica durante la segunda quincena de mayo a la primera de julio. En la especie larvípara, O. corteziensis, ocurre durante el mes de agosto.

La tercera gametogénesis, ubicada en la etapa III, acontece en forma inmediata al desove total, se presenta en C. virginica entre la segunda quincena de agosto y octubre, mientras en C. iridescens ocurre durante los meses de septiembre y octubre. En O. corteziensis esta tercera secuencia de actividad no ha sido determinada a nivel histológico, pero los trabajos en el campo ostrícola reproductor reportan que este fenómeno se presenta hacia finales de septiembre y primera quincena de octubre (Figuras 6, 7, 8 y 9).

Los óvulos en las gónadas muy maduras se encuentran en paquetes comprimidos, en estas condiciones los diámetros de las células presionadas decrecen. Las medidas de diámetro mayor, en esta forma obtenidas, proporcionan valores máximos que en las épocas de maduración oscilan desde 44,0 a 47,5 μ para las especies ovíparas C. virginica y C. iridescens. Los promedios máximos de tamaños de óvulos en O. corteziensis se registran entre las 55,5 y 57,6 μ . Los resultados de las mediciones constatan el hecho de que los ovocitos de las especies larvíparas contienen mayor cantidad de vitelo en relación a las especies ovíparas. Evidentemente el período reproductivo en las tres especies mencionadas, termina en la mayoría

de los especímenes en el mes de octubre de cada año. A partir de noviembre se presenta la etapa IV en que las gónadas comienzan a reabsorberse completamente y volver a su estado inactivo después del segundo desove o desove total. Se puede establecer que las hembras desovan dos veces al año y que los óvulos, que en menor tamaño y cantidad, se producen en la tercera gametogénesis, muy aparente en C. virginica, degeneran y son reabsorbidos en la involución gonádica.

En las tres especies estudiadas a medida que se aproxima la época de desove aparecen en el tejido conjuntivo que rodea los conductos, elementos de secreción en forma de corpúsculos o gránulos que se hacen más abundantes en el momento en que culmina el desove. Probablemente estos productos de secreción se originan a partir del tejido conectivo intersticial y posteriormente se proyectan hacia los conductos o folículos, ya que su aparición y distribución está en relación directa con la época de diferenciación de las células sexuales.

Asimismo, a medida que la gónada muestra signos de desove, se desplazan hacia los folículos numerosos amibocitos cuya talla osciló entre 4 y 8 μ , de citoplasma granuloso y acidófilo, con cortas prolongaciones y núcleo pequeño. Durante este período también se pudieron reconocer células hialinas de citoplasma acidófilo homogéneo y núcleo excéntrico, cuya talla para las especies estudiadas, varía de 3 a 6 μ .

Los machos en las tres especies observadas no presentan los procesos de regresión gonádica tan marcada como las hembras. La espermatogénesis presenta un ritmo casi constante de actividad gametogénica interrumpida durante diciembre y enero. El epitelio germinal durante toda la época se observa más o menos engrosado, hasta que se presenta la completa reabsorción de la gónada que ocurre generalmente durante los meses de diciembre a febrero.

En las observaciones realizadas en C. virginica y C. iridescens no se encontraron individuos con signos de hermafroditismo ni estadios intersexuales, señalados para especímenes ovíparos del género Crassostrea. Kellogg (1892) describe la existencia de algunos ejemplares hermafroditas entre numerosos adultos de C. virginica. Burkenroad (1931) reportó que aproximadamente el 1 por ciento de la población de ostras sobre la costa de Louisiana eran hermafroditas. En O. corteziensis mediante frotis de elementos sexuales se pudo determinar un bajo porcentaje de hermafroditismo en individuos recolectados durante el mes de septiembre.

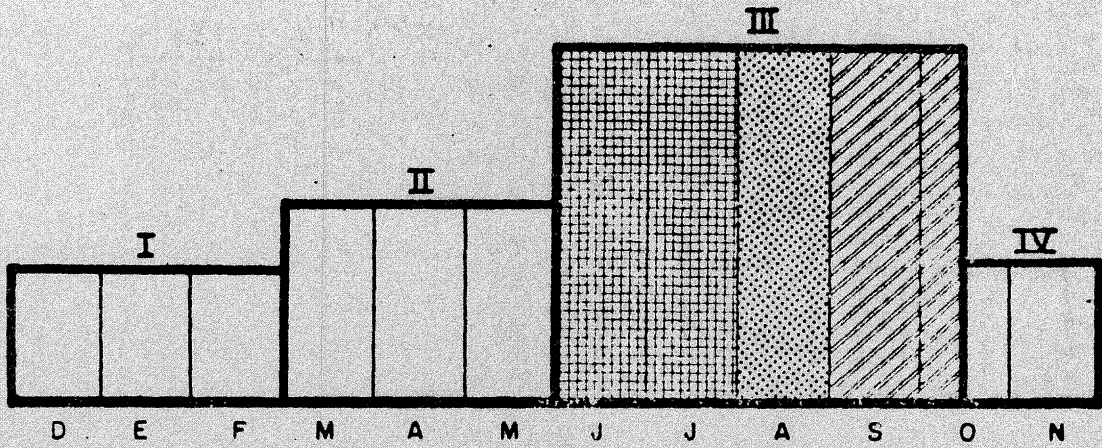
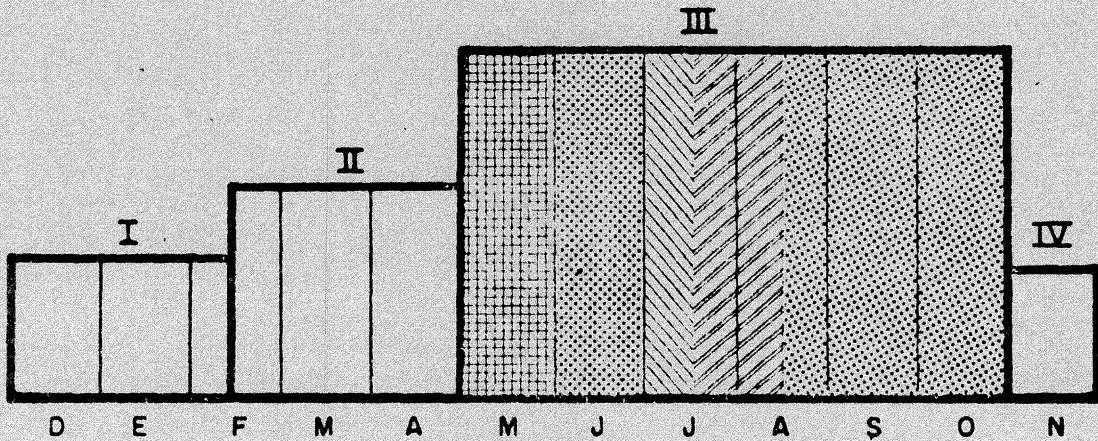


Fig. 6 - Ciclo gonádico de Ostrea cortesiensis



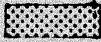
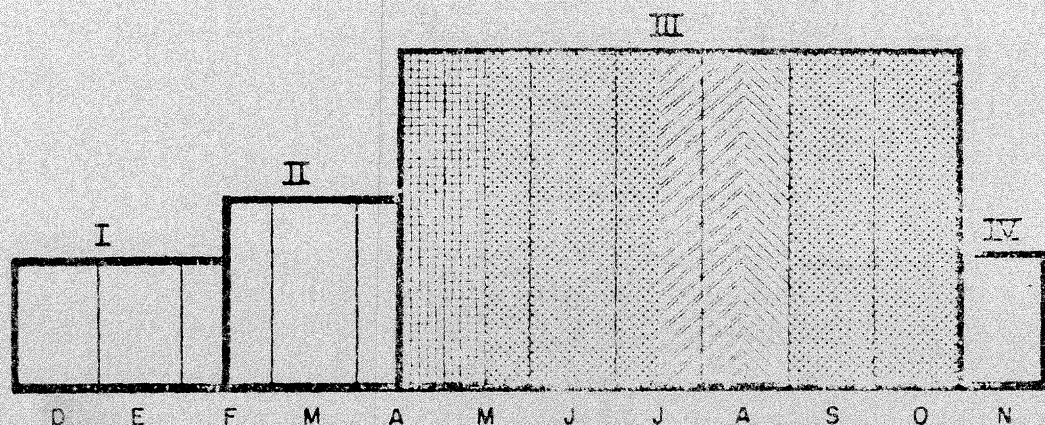
- I- INACTIVIDAD O' INDIFERENCIA
 II- PREREPRODUCTIVA O' MADURACION
 REPRODUCTIVA  - DESOVE PARCIAL
  - ACTIVIDAD
 III- O'  - DESOVE TOTAL
 DESOVE  - MADURACION TOTAL
 IV- POSTREPRODUCTIVA O' POSTDESOVE

Fig. 7 - Ciclo gonádico de Crassostrea virginica



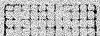

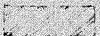

I- INACTIVIDAD O' INDIFERENCIA
 II- PREREPRODUCTIVA O' MADURACION
 REPRODUCTIVA  -- DESOVE PARCIAL
 -- ACTIVIDAD
 -- DESOVE TOTAL
 -- POSTDESOVE
 III- O'
 DESOVE
 IV- POSTREPRODUCTIVA O' POSTDESOVE

Fig. 8 - Ciclo gonádico de *Crassostrea iridescens*

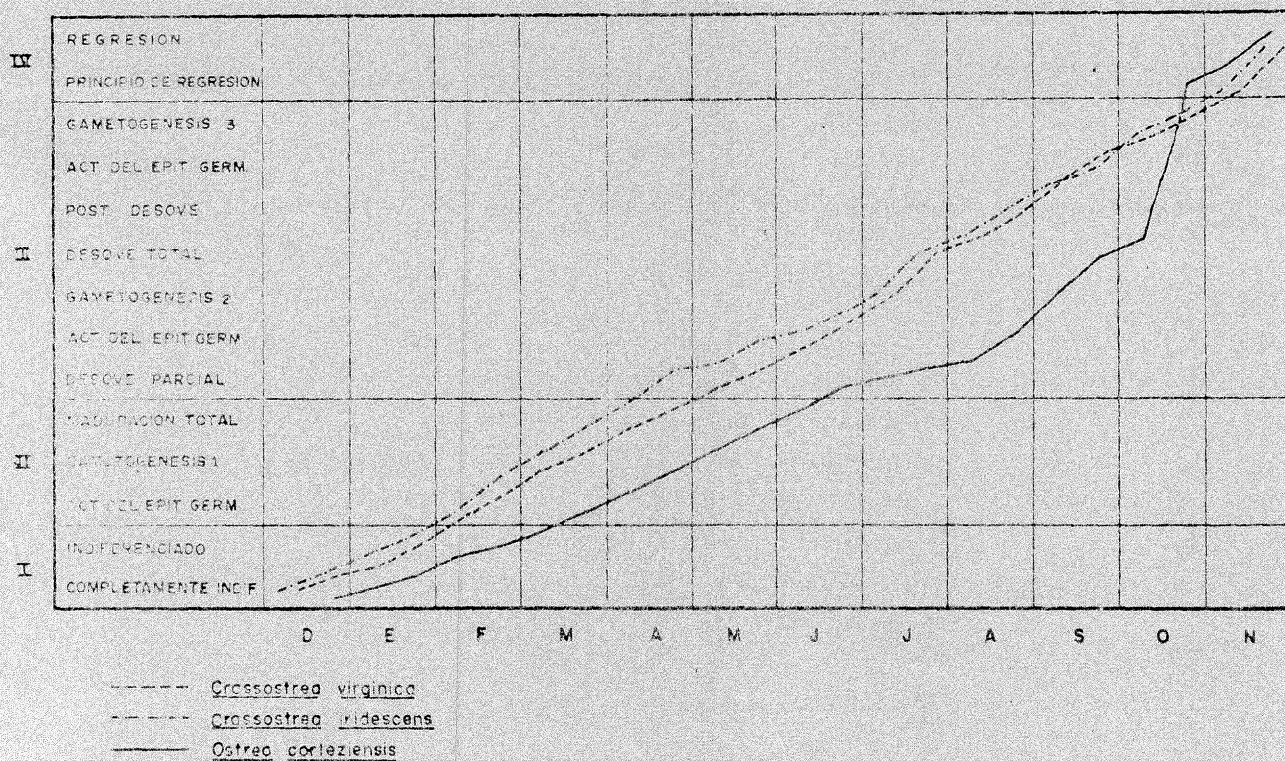


Fig. 9 - Ciclo gonádico comparativo