

Hermafroditismo Funcional de la Gónada de *Fissurella crassa* (Mollusca: Fissurellidae)

Functional Hermaphrodite Gonad in *Fissurella crassa* (Mollusca: Fissurellidae)

*Alberto Olivares Paz; **David Jofré Madariaga; **Carlos Alvarez Mazú & ***Eduardo Bustos-Obregón

OLIVARES, P. A.; JOFRÉ, M. D.; ÁLVAREZ, M. C. & BUSTOS-OBREGÓN, E. Hermafroditismo funcional de la gónada de *Fissurella crassa* (Mollusca: Fissurellidae). *Int. J. Morphol.*, 27(2):509-514, 2009.

RESUMEN: La costa del Pacífico sudoriental es el hábitat de las 13 especies de lapas descritas del subgénero *Fissurella* Brugière. En estas especies no existe dimorfismo sexual, los animales son dioicos, el sexo se reconoce explorando directa o indirectamente las gónadas y no tienen procesos de reversión sexual. La presencia de un organismo de *Fissurella crassa* con gónada formada por porciones de ovario y otras de testículo con capacidad para generar óvulos y espermatozoides, evidencia la potencialidad que los organismos de *Fissurella* poseen para desarrollar el hermafroditismo funcional. Sin embargo, el presente hallazgo no permite inferir si el agente desencadenante del desarrollo sincrónico funcional de la gónada hermafrodita es un factor endógeno y/o asociado a algún evento exógeno medio ambiental.

PALABRAS CLAVE: Mollusca; *Fissurella crassa*; Hermafrodita; Gónada; Gametos.

INTRODUCCIÓN

La costa litoral del Pacífico sudoriental es el hábitat para 13 especies del subgénero *Fissurella* Bruguière; Fissurellidae: Vetigastropoda (McLean, 1984), de las cuales 10 son de importancia económica y forman parte de una pesquería multiespecífica artesanal de Chile (Bretos, 1988; Oliva & Castilla, 1992; Osorio, 2002). Las diferentes especies de *Fissurella* son dioicas, carecen de dimorfismo sexual externo y el sexo solamente se reconoce después de la disección del animal, mediante la observación macroscópica del color de la gónada. El testículo presenta una amplia gama de coloración que fluctúa entre diferentes tonalidades de amarillo pálido a blanco lechoso y el ovario muestra variaciones en la intensidad del color verde (Bretos *et al.*, 1988; Bretos, 1978; Bretos & Chihuailaf, 1993). Un método alternativo para identificar el sexo, sin sacrificar al animal, consiste en la observación de células germinales obtenidas por medio de punciones gonádicas, a través del pie (Huaquín *et al.*, 1998). En diferentes estudios realizados se ha constatado que las especies de *Fissurella* son dioicas y no presentan evidencias de inversión sexual ni de hermafroditismo (Bretos

& Chihuailaf; Huaquín *et al.*, 1998; Bretos *et al.*, 1983). Sin embargo, en contraste a lo anterior en este trabajo se describe la organización de un organismo hermafrodita cuya gónada se caracteriza por tener una estructura y organización histológica de ovario y testículo, con capacidad funcional para generar óvulos y espermatozoides simultáneamente.

MATERIAL Y MÉTODO

Área de estudio. En la zona intermareal y submareal del litoral rocoso comprendida desde Isla Santa María (Lat. 23°23'S; Long. 70°36'W) hasta playa Escondida (Lat. 23°51'S; Long. 70°30'W), II Región de Antofagasta, Chile, se recolectaron individuos de diferentes tamaños de *F. latimarginata*, *F. maxima*, *F. cumingi*, *F. costata*, *F. limbata* y *F. crassa* (Figs. 1a-1b). Los ejemplares fueron clasificados en base a las características morfológicas y diseños de coloraciones específicas de la concha y del cuerpo descrita para las diferentes especies de *Fissurella* Bruguière (Osorio; Oliva & Castilla, 1992).

* Departamento de Acuicultura. Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta, Chile.

** Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta, Casilla 170, Antofagasta, Chile.

*** Laboratorio Biología de la Reproducción (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago Chile.

Financiado parcialmente por proyecto FONDECYT 1070898

Morfometría y determinación del sexo. A cada uno de los ejemplares se les midió el largo de la concha (precisión 0,1 mm). El sexo fue reconocido en animales disectados en concordancia a los patrones de coloración gonadal mencionados para machos y hembras (Bretos & Chihuilaf). Se constató la proporción de los sexos considerando la relación 1:1 mediante la prueba de Chi-Cuadrado (χ^2), con una significancia menor a 0.01 y un valor crítico de χ^2 igual a 6.635 (Zar, 1996).

Histología gonadal. A nivel de microscopía óptica se realizó el análisis histológico de secciones de gónada teñidas con hematoxilina-eosina. Las muestras fueron procesadas por técnica histológica de rutina, después de haber sido fijadas en Bouin alcohólico (Howard & Smith, 1983).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se analizaron 700 ejemplares entre las 6 especies de *Fissurella*. Los ejemplares de mayor tamaño correspondieron a *F. cumingi*, *F. latimarginata* y *F. maxima*, en concordancia al denominado grupo *F. maxima* (McLean) y las más pequeñas a *F. limbata* y *F. crassa* (Tabla I). Todos los ejemplares eran adultos y en esta categoría las proporciones de sexos observadas en estas especies no variaron significativamente ($p < 0,01$) de la proporción sexual 1:1 (Tabla I), lo cual ratifica que en el subgénero *Fissurella* Bruguièri no hay procesos de reversión sexual durante el crecimiento y maduración sexual.

Aunque en *F. crassa*; denominada popularmente “lapa de sol”, “lapa florío”, o “lapa ocho” según la región de Chile (Bretos, 1988); también se detectó un porcentaje similar de hembras y machos, adicionalmente se constató la existencia de un animal hermafrodita, lo cual difiere de las características sexuales descritas para las distintas especies del género *Fissurella* de aguas tropicales y templadas (Ward, 1966; Huaquín *et al.*, 2004; Collado & Brown, 2007).

El animal hermafrodita fue recolectado en el intermareal frente a la Universidad de Antofagasta (Lat. 23°41`60”S; Long. 70°25`1,20”W). Tenía las siguientes características morfométricas: largo total de concha 36,73 mm; ancho de concha 21,36 mm; alto de concha 7,71 mm., peso total 7,6685 g, peso de la concha 2,2366, peso del cuerpo 5,723g, peso del pie 3,85g y peso de la gónada 0,2911 g. De acuerdo a la curva de crecimiento determinada para esta especie el animal hermafrodita tendría una edad aproximada de 21 meses (Bretos, 1980).

Fig. 1a. Zona del intermareal y submareal de un sector del litoral de la costa de Antofagasta, Chile, en la cual habitan distintas especies de *Fissurella*.

Fig. 1b. Características morfológicas de organismos correspondientes a tres especies de *Fissurella* de la costa de Antofagasta, Chile (barra representa 5 cm).

Figs. 2-4. Aspecto macroscópico y patrón de coloración del testículo (Fig. 3), ovario (Fig. 3) y de la gónada hermafrodita (Fig. 4) de *Fissurella* (barra equivale a 1 cm).

Figs. 5-8. Cortes de 6µm de gónadas de *F. crassa*, teñidos con Hematoxilina y Eosina. La barra corresponde a 100 µm). Las microfotografías fueron registradas en cámara digital.

Fig. 5. Sección de ovario con numerosos ovocitos maduros (Om) que llenan el acino ovárico y ovocitos no vitelados (Onv) en la parte interna de la pared de los ácnos.

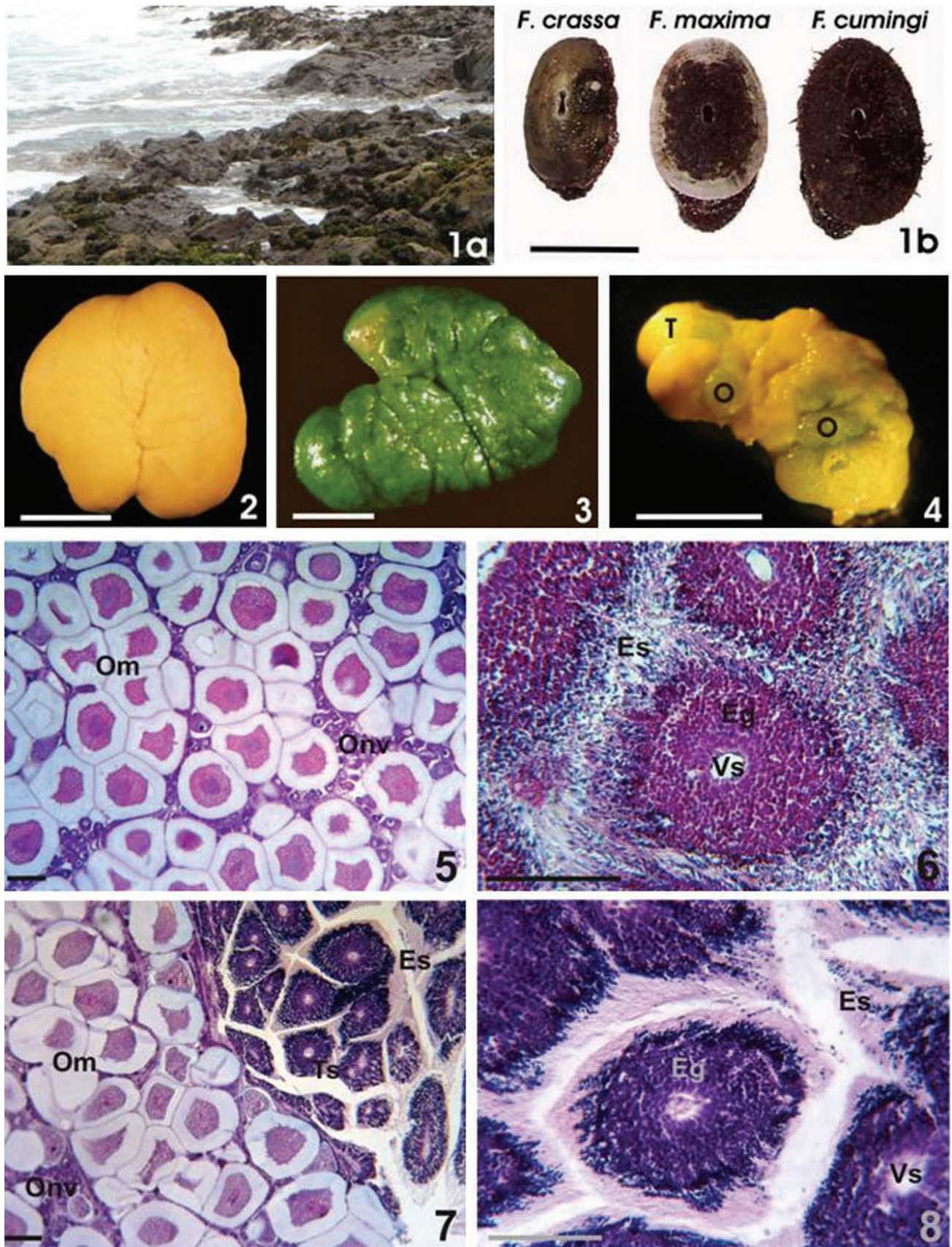
Fig. 6. Sección de testículo maduro en fase de liberación moderada de espermatozoides (Es). El centro de los túbulos seminíferos ocupado por vaso sanguíneo (VS) alrededor del cual se organiza el estrato germinal (Eg).

Fig. 7. Sección de gónada del animal hermafrodita, a través de la porción del ovario y testículo. Los ovocitos maduros que ocupan completamente la cavidad del alveolo y los túbulos seminíferos (Ts) liberando espermatozoides evidencian la función gamética de ambas gónadas.

Fig. 8. Sección de túbulos seminíferos, de la gónada hermafrodita, en etapa inicial de liberación de espermatozoides.

Tabla I. Longitud promedio ($X \pm D.E.$) de la concha y valores de χ^2 para las proporciones sexuales de las diferentes especies de *Fissurella*, que habitan en el litoral de Antofagasta, Chile.

Especie	Largo concha (mm)		Machos (M)		Hembras (H)		Proporción Sexual	
	n	X ± D.E.	n	%	n	%	M/H	χ^2
<i>F. cumingi</i>	57	71,6 ± 8,9	27	47,36	30	52,63	0,90	0,16
<i>F. maxima</i>	188	68,7 ± 14,7	78	41,49	110	58,51	0,71	5,68
<i>F. latimarginata</i>	141	67,9 ± 9,4	75	53,19	66	46,81	1,14	0,57
<i>F. costata</i>	50	55,0 ± 7,3	30	60,00	20	40,00	1,50	2,00
<i>F. limbata</i>	61	60,9 ± 9,8	30	49,18	31	50,82	0,97	0,02
<i>F. crassa</i>	203	53,5 ± 9,8	93	45,81	110	54,19	0,85	1,42



Análisis macroscópico de las gónadas: los machos de las distintas especies analizadas en este estudio presentaron un testículo, de coloración blanquecina a amarillo pálido, dividido superficialmente en lóbulos irregulares (Fig. 2). A su vez, las hembras tenían un solo ovario de color verde, cuya superficie está recorrida por surcos superficiales poco profundos que lo dividen parcial e irregularmente (Fig. 3). Estos caracteres macroscópicos del ovario y testículo se corresponden a los patrones característicos definidos para las gónadas de las diferentes especies del género *Fissurella*, en las que se ha analizado el ciclo reproductivo y funcionamiento gametogénico gonadal (Bretos & Chihuailaf; Huaquín *et al.*, 2004, Collado & Brown). El animal hermafrodita presentó una gónada que difiere drásticamente de la forma acorazonada y sacciforme del ovario y testículo. Esta gónada atípica y de forma irregular se caracterizó por estar estructurada en base a numerosas protuberancias semicirculares de color blanquecino y otras de color verde, en concordancia con las variaciones de los colores del testículo y ovario respectivamente (Fig. 4).

Análisis microscópico: en todas las especies analizadas la gónada de ambos sexos está formada por una serie de septos de tejido conectivo en torno al cual se disponen las células germinales, en una organización característica descrita para las especies del género *Fissurella* (Oliva, 1992; Collado & Brown). En el ovario los diversos septos presentan ovogonias, ovocitos no vitelados de diferentes tamaños, ovocitos vitelados y maduros (Fig. 5). En el testículo, las células germinales muestran una distribución centrifuga irradiando desde el centro hacia afuera en estratos secuenciales las espermatogonias, espermatocitos I, espermatocitos II, espermátidas redondas y espermátidas en diferenciación, las cuales se distribuyen en columnas perpendiculares y durante la espermiación se desorganizan desde el extremo apical al basal (Fig. 6). La gónada hermafrodita estaba estructurada en diferentes áreas separadas por una fina capa de tejido conectivo, correspondientes a organizaciones histológicas de ovario o de testículo (Fig. 7), de acuerdo con los respectivos patrones macroscópicos de color descritos para cada uno de los órganos. Las porciones ováricas poseen todos los tipos de células que mues-

tran la progresión normal de la formación de ovocitos a partir de ovogonias. La presencia de ovocitos vitelados maduros que llenan completamente los acinos ováricos son indicadores de que el funcionamiento de las diferentes organizaciones ováricas de la gónada hermafrodita no difiere de la función gametogénica del ovario presente en organismos hembras. Similarmente, en las porciones de testículo del hermafrodita todos los túbulos seminíferos tienen las distintas poblaciones de células germinales que facultan la formación de espermatozoides a partir de las espermatogonias. El evento de espermiación de los túbulos seminíferos (Fig. 8) evidencia que el animal hermafrodita tendría la potencialidad de desovar y eventualmente reproducirse. Así se puede inferir que la gónada hermafrodita es gametogénicamente funcional, existiendo un desarrollo sincrónico en la formación de gametos maduros, aspecto que ha sido constatado en otros moluscos (Borzzone *et al.*, 2003). No obstante, no se puede aseverar si la liberación de óvulos y espermatozoides serían coincidentes o si paralelamente se hubiere desencadenado algún mecanismo que interfiriera en la liberación simultánea de gametos, como la evacuación protándrica que minimiza las posibilidades de la autofecundación en moluscos hermafroditas (Avenidaño *et al.*, 2001; Villalejo & Ochoa, 1993).

En adición, no es posible identificar el o los agentes internos y/o externos que hayan desencadenado el desarrollo de una gónada hermafrodita en este ejemplar de *Fissurella crassa*. Esta especie es un habitante característico de la zona media intermareal (Serra *et al.*, 2001) las cuales en todo el mundo son susceptibles a los diversos agentes contaminantes derivados de la actividad humana y entre ellos algunos han sido identificados como desencadenantes de anomalías en la estructura y funcionamiento reproductivo de moluscos (Thompson *et al.*, 2002). El litoral de La bahía de San Jorge (Antofagasta, II Región), no difiere de esta situación y está sometida a los efectos de una moderada acción antropogénica; destacando los altos aportes naturales de metales pesados y los provenientes por descargas industriales y municipales, que tienden a ser acumulados en alta cantidad en los tejidos de algunos invertebrados que habitan la zona (Salamanca *et al.* 2004).

OLIVARES, P. A.; JOFRE, M. D.; ÁLVAREZ, M. C. & BUSTOS-OBREGÓN, E. Functional hermaphrodite gonad in *Fissurella crassa* (Mollusca:Fissurellidae). *Int. J. Morphol.*, 27(2):509-514, 2009.

SUMMARY: The coast of the Southeastern Pacific is the habitat for 13 species of described keyhole limpets of the subgenus *Fissurella* Brugière. In these species sexual dimorphism does not exist, the animals are dioicos, the sex is recognized exploring directly or indirectly the gonads and they do not have processes of sexual reversion. The presence of an organism *Fissurella crassa* with portions of ovary and testicle with ability to generate ova and sperms, demonstrates the potential that *Fissurella's* organisms possess to develop functional hermaphroditism. Nevertheless, the present find does not allow to infer if the trigger agent of the synchronous functional development of the hermaphrodite gonad is a factor endogenous and / or associated with any exogenous environmental event.

KEY WORDS : Mollusca; *Fissurella crassa*; Hermaphrodite; Gonad; Gamete.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avendaño, M.; Le Pennec, M. & Cantillanez, M. Anormalidades en larvas de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) (Mollusca:Pectinidae), uno de los problemas en la producción artificial de semilla. *Estudios Oceanológicos*, 20:33-42, 2001.
- Borzone, C. A.; Pezzuto, P. R. & Garcia Tavares, Y. A. Características histológicas del ciclo reproductivo de *Euvola ziczac* (Linnaeus) (Pectinidae, Bivalvia) del litoral sur-sudeste del Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(4):763-72, 2003.
- Bretos, M.; Tesorieri, I. & Alvarez, L. The biology of *Fissurella maxima* Sowerby (Mollusca: Archaeogastropoda) in northern Chile. 2. Notes on its reproduction. *Biology Bulletin*, 165:559-68, 1983.
- Bretos, M. Age determination in the keyhole limpet *Fissurella crassa* Lamarck (Archaeogastropoda: Fissurellidae), based on shell growth rings. *Biology Bulletin*, 159:606-12, 1980.
- Bretos, M. & Chihuailaf, R. Studies on the reproduction and gonadal parasites of *Fissurella pulchra* (Gastropoda: Prosobranchia). *The Veliger*, 36(3):245-51, 1993.
- Bretos, M. Growth in the keyhole limpet *Fissurella crassa* Lamarck (Mollusca : Archaeogastropoda). *The Veliger*, 21(2):268-73, 1978.
- Bretos, M.; Gutiérrez, J. & Espinoza, Z. Estudios biológicos para el manejo de *Fissurella picta*. *Medio Ambiente*, 9(1):28-34, 1988.
- Bretos, M. Pesquería de lapas en Chile. *Medio Ambiente*, 9 (2):7-12, 1988.
- Collado, G. A. & Brown, D. I. Microscopic anatomy of the reproductive system in two sympatric species of *Fissurella* Brugieri, 1789 (Mollusca: Vetigastropoda). *Int. J. Morphol.*, 25(2):315-22, 2007.
- Howard, D. W. & Smith, C. S. *Histological techniques for marine bivalve molluscs*. Massachusetts, NOAA Technical Memorandum, 1983.
- Huaquín, L.; Guerra, R. & Bretos, M. Identificación del sexo y morfología de gametos de la lapa *Fissurella crassa* Lamarck, 1822 (Mollusca: Archaeogastropoda). *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 33(2):223-39, 1988.
- Huaquin, L.; Guerra, R. & Del Campo, A. Ovary cell differentiation and morphology of mature oocytes in *Fissurella crassa* Lamarck 1822 (Mollusca: Archaeogastropoda). *Invert. Rep. Dev.*, 46:103-10, 2004.
- McLean, J. H. Systematics of *Fissurella* in the Peruviana in Magellanic faunal provinces (Gastropoda: Prosobranchia). *Natural History Museum of Los Angeles County, Science Bulletin*, 354:1-70, 1984.
- Oliva, D. & Castilla, J. C. Guía para el reconocimiento y morfometría de diez especies del género *Fissurella* Brugiere, 1789 (Mollusca:Gastropoda) comunes en la pesquería y conchales indígenas de Chile central y sur. *Gayana Zoo.*, 56(3-4):77-108, 1992.
- Oliva, M. Parasitic castration in *Fissurella crassa* (Archaeogastropoda) due to an adult Digenea Proctoeces lintoni (Fellodistomidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(1):37-42, 1992.
- Osorio, R. C. *Moluscos marinos en Chile. Especies de importancia económica. Guía para su identificación*. Ed. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago Chile, 2002.
- Salamanca, M. A.; Jara, B. & Rodriguez, T. Niveles de Cu, Pb, y Zn en agua y *Perumytilus purpuratus* en Bahía San Jorge, Norte de Chile. *Gayana*, 68(1):53-62, 2004.
- Serra, G.; Chelazzi, G. & Castilla, J. C. Temporal and spatial activity of the key-hole limpet *Fissurella crassa* (Mollusca: Gastropoda) in the eastern Pacific. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 81:485-90, 2001.
- Thompson, R. C.; Crowe, T. P. & Hawkins, S. J. Rocky intertidal communities: past environmental changes, present status and predictions for the next 25 years. *Environmental Conservation*, 29(2):168-91, 2002.
- Villalejo-Fuerte, M. & Ochoa-Báez, R. I. El ciclo reproductivo de la almeja catarina, *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835), en relación con temperatura y fotoperiodo, en Bahía Concepcion, B.C.S., México. *Ciencias Marinas*, 19(2):181-02, 1993.

Ward, J. The breeding cycle of the keyhole limpet *Fissurella barbadensis* Gmelin. *Bull. Mar. Sci.*, 16:685-95, 1966.

Zar, J. H. *Biostatistical analysis*. 3^a. Ed. New Jersey, Prentice Hall, 1996.

Dirección para correspondencia:
Alberto Olivares Paz
Departamento de Acuicultura.
Facultad de Recursos del Mar
Universidad de Antofagasta
Casilla 170,
Antofagasta -CHILE

Email: aolivares@uantof.cl

Recibido : 02-01-2009

Aceptado: 12-03-2009