

Tesis de Posgrado

La estructura y formación de la cápsula de los huevos de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata = Planorbidae)

Nahabedian, Daniel Eduardo

1992

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Nahabedian, Daniel Eduardo. (1992). La estructura y formación de la cápsula de los huevos de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata = Planorbidae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2485_Nahabedian.pdf

Cita tipo Chicago:

Nahabedian, Daniel Eduardo. "La estructura y formación de la cápsula de los huevos de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata = Planorbidae)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1992.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2485_Nahabedian.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS

EXACTAS Y NATURALES

TESIS DOCTORAL

TITULO:

La estructura y formación de la
cápsula de los huevos de
Biomphalaria glabrata
(Mollusca: Pulmonata:
Planorbidae).

AUTOR:

Lic. DANIEL EDUARDO NAHABEDIAN

DIRECTOR:

Dr. HUMBERTO J. A. MORETTO

LUGAR DE TRABAJO:

Laboratorio de Invertebrados
Departamento de Ciencias
Biológicas

La presente tesis es presentada para optar al título de
Doctor en Ciencias Biológicas.

1992

Tesis.
2485.
y. 2

III. Biología de las células nodrizas del sistema reproductor de <u>Biomphalaria glabrata</u>:	
1. Las células nodrizas (trofocitos) del ovotestis.	76
2. Los pigmentos vinculados al ovotestis.	
Células pigmentadas.	78
3. La "masa cáctica".	85
4. Ciclo de los trofocitos.	92
IV. Funcionamiento del tracto genital hembra en <u>Biomphalaria glabrata</u>: Formación de la cápsula de los huevos:	
1. Secreciones del tracto genital hembra.	96
2. Histoquímica del tracto genital hembra.	98
3. Naturaleza y origen de las envolturas de las cápsulas.	105
Discusión y conclusiones:	113
Sumario:	128
Bibliografía:	130
Figuras:	140

PREFACIO

El trabajo expuesto en esta memoria ha sido realizado en el **Laboratorio de Invertebrados** del **Departamento de Ciencias Biológicas** de la **Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires** y dirigido por su **Director el Dr. Humberto J. A. Moretto**. Una vez más quiero expresar al Dr. Moretto mi gratitud por sus valiosos conceptos y los estímulos que no me ha dejado de prodigar. No podría olvidar que sin el Dr. Moretto este trabajo no hubiera visto la luz. Sus métodos de didáctica y de investigación fueron bien reconocidos por el egregio **Profesor P.-P. Grassé**, quien lo alentó a aplicarlos en Sudamérica. Y es su **Laboratorio de Invertebrados**, al cual me honro pertenecer, el centro de aplicación de esas ideas sobre la docencia y la investigación científica.

Al **Dr. A. Garrido**, Jefe del **Servicio de Anatomía Patológica** del **Hospital Durand**, al **Dr. J. Oscar Croxatto**, Jefe del **Departamento de Patología Ocular y Ultraestructura** de la **Fundación Oftalmológica Argentina "Jorge Malbran"** y a la señorita **Cecilia Noemi Rossner**, les expreso mi gratitud por la gentil ayuda que me brindaron en el estudio de la sustancia amiloide.

Deseo manifestar mi agradecimiento al Centro de Virología Animal (CEVAN-CONICET) y a su técnico operador, el señor **Natalio De Vincenzo**, por la prestación del microscopio electrónico de transmisión; como así también al Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos G. Malbrán".

En homenaje póstumo, deseo dejar explícito mi recuerdo y gratitud al **Dr. Juan F. R. Bejarano**, ex-Director Nacional de Promoción y Protección de la Salud, por el apoyo que brindó en vida, a las investigaciones malacológicas iniciadas en el Laboratorio de Invertebrados y continuadas contra todo tipo de adversidad.

reproductor se encuentra la tendencia de los ductos que desagotan productos sexuales desde el ovotestis, en unirse en un ducto común que desemboca en un órgano selector de gametas femeninas y masculinas. De dicho órgano selector parten el oviducto y el espermiducto, para desagotar al exterior, por sendos gonoporos o en un atrio genital común que se abre por un gonoporo único.

A este esquema general, a lo largo de los ductos se constituyen otras estructuras anexas al aparato reproductor, tales como: vesículas seminales, glándula del albumen, glándula prostática, bursa coagulatrix, etc. (Moretto & Nahabedian, 1980, 1987).

Los pulmonados tienen generalmente desarrollo directo, a excepción de algunas especies marinas costeras con estados larvales, como **Oncidiidae** que tienen larva veliger, pelágica, con concha y opérculo que se pierden en el adulto, y los **Ellobidae** con larva trocófora.

Los **Pulmonata** fueron capaces de colonizar las tierras emergidas y esta capacidad fue posible gracias a ciertas adaptaciones entre las cuales recordaremos:

1) adelgazamiento de la concha que pesa menos. puesto que fuera del agua los animales no tienen el auxilio de las fuerzas hidrostáticas;

2) la pérdida de agua es muy reducida por la abundante secreción mucosa, por la excreción de ácido úrico no soluble y por la tendencia a la vida inactiva durante el verano acompañado del cierre de la concha mediante un

epifragma;

3) la desaparición de la branquia y el cierre de la cavidad paleal, a excepción de una abertura, el pneumostoma, formándose así un saco con paredes muy vascularizadas o "pulmón". En Janella, una forma de la región australiana, del saco pulmonar irradian invaginaciones tubulares, semejantes a las tráqueas de los artrópodos, las cuales llegan hasta los senos sanguíneos. El intercambio del aire está asegurado por las dilataciones y contracciones de la cavidad paleal y al abrirse cerrarse rítmicamente del pneumostoma.

Los **Basommatophora** constituyen un orden de Pulmonata que presenta un par de tentáculos contráctiles, no evaginables, en la base de los cuales están situados los ojos. Los más primitivos viven a lo largo de la zona marina costera o las riberas de los ríos; son acuáticos, semiacuáticos o terrestres. Los más evolucionados son decididamente de agua dulce, mantienen el "pulmón" y salen a la superficie del agua para respirar y lo complementan o lo sustituyen con la pseudobranquia; la concha siempre está presente.

Los **Planorbidae** son basomatóforos que viven en las aguas dulces, a las cuales se han adaptado secundariamente: ellos respiran con el aire atmosférico, captado desde la superficie del cuerpo de agua. Poseen concha externa senestra, enrollada en hélice, muy aplanada, con ombligo ancho; el lóbulo inferior de su manto está

transformado en una branquia adventicia. El plasma sanguíneo puede contener hemoglobina.

Los planorbidos pertenecientes al género Biomphalaria abundan en las aguas dulces del Africa y Sudamérica (Moretto & Nahabedian, 1980, 1982, 1987). Pueden llegar a ser hospedadores intermediarios de helmintos, con incidencia muy importante en problemas sanitarios (Moretto, 1980). Algunos sirven de soporte a metazoos metaméricos epibiontes (Moretto & Nahabedian, 1985).

El objetivo de nuestras investigaciones, es conocer aspectos de la fisiología del ovotestis y del tracto genital hembra de Biomphalaria glabrata, un molusco dulciacuícola sudamericano, con importancia en la malacología médica. Ensayaremos en el presente estudio dilucidar el problema de la formación de la cápsula de los huevos de esta especie, información que podría tener interés pragmático para el control de ciertas parasitosis humanas.

MATERIALES Y METODOS

a) Metodología general:

Los especímenes de Biomphalaria glabrata, que se estudiaron descendían de una población salvaje recolectada, en su oportunidad, en el valle del río Paranaíba do Sul, Estado de San Pablo, Brasil.

En nuestro Laboratorio, los animales son criados en peceras de 17 y 40 litros de capacidad, con agua estacionada y aireada permanentemente. La temperatura del agua es mantenida entre 20 y 24 °C, y los animales son alimentados con hojas lavadas, sin nervadura central, de Lactuca sativa (Moretto & Nahabedian, 1980, 1982, 1987).

Con el objeto de establecer la morfología del sistema reproductor en Biomphalaria, estudiamos comparativamente los sistemas reproductores de B. glabrata, B. peregrina y B. tenagophila. Los especímenes de estas dos últimas especies pertenecían a poblaciones criadas en nuestro Laboratorio (Moretto & Nahabedian, 1982).

El número de animales utilizados en nuestros estudios, el parámetro promedio de sus conchas y sus varianzas, se detallan en el Cuadro I.

Cuadro I:

ESPECIES	NUMERO DE ANIMALES	CONCHAS (en mm)			
		DIAMETRO		ALTURA	
		MEDIA	VARIANZA	MEDIA	VARIANZA
<u>R. olabrata</u>	132	24,79	1,09	7,96	0,42
<u>R. peregrina</u>	126	10,25	1,45	3,37	0,56
<u>R. tenacchila</u>	118	14,31	0,46	5,66	0,18

Los animales de cada especie fueron separados de sus conchas de acuerdo a las técnicas indicadas en Moretto & Nahabedian (1987). Otra técnica utilizada para la disección de órganos, fue realizada narcotizando a los animales con mentol en alcohol 96°.

Como fijadores histológicos fueron utilizados, el Bouin - Hollande, el de Zenker, el de Helly, el de Hamazaki. Para los ensayos histoquímicos, los líquidos de Baker, de Gendre, de Ciaccio y el formol neutro al 4% (Gabe, 1968; Pantin, 1968).

La inclusión para microscopía de luz se realizó en parafina 56 - 58 °C. Luego se cortó a los animales en forma seriada y completa en secciones de 6 u 8 µm de espesor.

Para los ensayos histoquímicos se los incluyó en parafina 56 - 58 °C y se los cortó en secciones de 8 a 10 µm de espesor. Otros especímenes, preparados para los estudios de lípidos, se fijaron e incluyeron siguiendo la técnica de Backer, con un tiempo de poscromización de un mes y cortados con micrótopo de congelación, también en secciones de 8 a 10 µm de espesor.

Para el MET, los órganos fueron fijados en glutaraldehído al 3% en 0,25 M de cacodilato de sodio, buffer a pH 7,3, Luego postfijados en tetroxido de osmio al 1% en 0,25 M de cacodilato de sodio, con 0,12 M de sucrosa, por una

hora y embebidos en resina de Spurr. Se realizaron cortes finos seriados, que fueron observados en los microscópios electrónicos: Zeiss, modelo EM109 y JEOL, modelo JEM-1000, luego de colorearlos con acetato de uranio citrato de plomo. Otros cortes semifinos fueron observados con el microscópio de luz.

Las tinciones utilizadas fueron: 1) hematoxilina de Carazzi - eosina; 2) tricrómico de Masson, variante de Goldner; 3) método de Van Gieson; 4) safranina - verde luz; 5) triple contraste de Hollande; 6) método de Mallory; 7) tricrómico de Gomori; 8) azan de Heidenhain; 9) tricrómico en un tiempo o de Gabe - Martoja; 10) método de Unna; 11) coloración panóptica de Pappenheim; 12) método de Freeborn; 13) método de Gregg y Puckett y 14) reacción nuclear de Feulgen y Rossenbeck (Gabe, 1968; Pantin, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970; Gray, 1975; Locquin & Langeron, 1978).

Histoquímica:

LIPIDOS:

Para ensayos de lípidos se fijaron e incluyeron los animales de acuerdo a la técnica de Baker (Pantin, 1968), con un mes de poscromización y cortados con micrótomo de congelación en secciones de 8 a 10 μ m de espesor. Las técnicas utilizadas fueron: 1) negro Sudan B a temperatura

ambiente (lípidos líquidos) (Gabe, 1968; Pantin, 1968); 2) negro Sudan B a 60 °C (lípidos sólidos) (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 3) método de Feytaer o coloración por montaje con tionina - ácido tartárico (lípidos ácidos) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 4) método de Lison, por autooxidación (lípidos no saturados) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 5) método de Pearse o APAS (lípidos no saturados) (Pearse, 1968 - 1972); 6) método de Pearse, variante de Lillie o APFS (lípidos no saturados, fosfolípidos y cerebrosídeos) (Pearse, 1968 - 1972); 7) método de Hayes (lípidos con grupos acetálicos) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970) y 8) método de Lorrain - Smith, variante de Cain (lípidos con grupos electronegativos) (Gabe, 1968).

Los lípidos ligados a proteínas, fueron "desenmascarados" por: 1) fenol al 1%; 2) metanol - cloroformo; 3) lavado abundante en agua; 4) ácido acético al 25% y 5) ácido oxálico al 10% (Martoja & Martoja-Pierson, 1970). Todos los métodos fueron, con posterioridad, revelados con negro Sudan B.

CROMOLIPOIDES:

Las técnicas utilizadas fueron: 1) prueba para fluorescencia con luz U. V. (Pearse, 1968 - 1972); 2) negro Sudan B a temperatura ambiente (Pearse, 1968 - 1972); 3) tionina al 0,5%, pH 4,2 (Pearse, 1968 - 1972); 4) azul de toluidina al 0,2%, pH 4,2 (Pearse, 1968 - 1972); 5) reacción argentafin clásica de Masson con el líquido de Fontana

(Pearse, 1968 - 1972); 6) reacción de Schmorl (reducción del ferricianuro) (Gurr, 1960; Pearse, 1968 - 1972); 7) reacción de Perls (azul de Prusia) (Pearse, 1968 - 1972); 8) método de Hueck con azul de Nilo sulfatado (Gabe, 1968; Pearse, 1968 - 1972; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 9) método de Lillie, con azul de Nilo (Pearse, 1968 - 1972); 10) método de Gomori (hematoxilina al cromoalumbre) (Pearse, 1968 - 1972); 11) método de Feyter o coloración por montaje (lípidos ácidos) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 12) método de Lorrain - Smith, variante de Cain con azul de Nilo concentrado y diluido (carácter ácido) (Gabe, 1968); 13) método de Ziehl - Neelsen con fucsina básica - alcohol ácido (acidorresistencia); (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 14) método de Hayes o reacción plasmal con sublimado - reactivo de Schiff (acetalfosfátidos o plasmalógenos) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970) y 15) método de Lison, por autooxidación con oxígeno atmosférico - reactivo de Schiff (lípidos no saturados) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970).

MUCOSUSTANCIAS:

Las técnicas utilizadas fueron: 1) reactivo de Schiff (Gabe, 1968); 2) APS (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 3) APAS (Pearse, 1968 - 1972); 4) APFS (Gabe, 1968); 5) método de Salazar (glicoproteínas y mucosustancias ácidas y neutras) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 6) método de Hale (mucosustancias ácidas) (Gabe, 1968; Martoja &

permangánica - sulfúrica) (Böhm & Opel, 1907; Pearse, 1968 - 1972); 8) decoloración por el método de Mayer (cloro nascente) (Böhm & Opel, 1907; Pearse, 1968 - 1972); 9) basofilia con tionina al 0.5%, pH 4,2 (Gabe, 1968); 10) reacción de Masson o argentafin clásica, con el líquido de Fontana (Gabe, 1968; Pearse, 1968 - 1972); 11) reacción de Schmorl (reducción del ferricianuro) (Gurr, 1960; Pearse, 1968 - 1972); 12) método de Perls (azul de Prusia) (Pearse, 1968 - 1972); 13) método de Lillie, con el hierro ferroso (Pearse, 1968 - 1972); 14) método de Hueck con azul de Nilo sulfatado (Pearse, 1968 - 1972; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 15) método de Lillie, con el azul de Nilo (Pearse, 1968 - 1972); 16) APS (Gabe, 1968; Pearse, 1968 - 1972; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 17) APAS (Pearse, 1968 - 1972) y 18) APFS (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970).

CAROTENOIDES:

Las técnicas utilizadas fueron: 1) líquido de Lugol (Gabe, 1968) y 2) solución de ácido sulfúrico (Gabe, 1968).

ACIDOFILIA:

El método utilizado fue el de Deitch (grupos electronegativos totales) (Gabe, 1968).

BASOFILIA:

Los métodos utilizados fueron: 1) tiónina 0,5%, pH 4,2 (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970) y 2) azul de toluidina 0,2%, pH 4,2 (Gabe, 1968; Martoja Martoja-Pierson, 1970).

METACROMACIA:

Las técnicas utilizadas fueron: 1) azul de toluidina al 0,2%, pH 4,4 y 3,4 de tampon acetato; (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 2) metilación (alcohol metílico - ácido clorhídrico) y metacromasia (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970) y 3) metilación, saponificación (alcohol etílico - hidróxido de potasio) metacromasia (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970).

PROTEINAS:

Las técnicas utilizadas fueron: 1) método de Hartig - Zacharias (proteínas "siderófilas") (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 2) método de Salazar (proteínas combinadas "tanófilas") (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 3) método de Deitch (grupos electropositivos totales) (Gabe, 1968); 4) método de Morel y Sisley, variante de Lillie (tirosina) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 5) método de Chèvremont y Frédéric (grupos tioles, SH) (Gabe, 1968; Pearse, 1968 - 1972; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 6) bloqueo de grupos tioles, por sublimado y por yodo, con posterior

revelado (obtención de resultados negativos) (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 7) reducción de grupos tioéteres (S-S) a tioles con sulfuro de amonio y posterior revelado (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 8) detección de grupos tioéteres por comparación entre revelado de grupos tioles (S) y revelado de grupos tioles tioéteres (7), siempre con verificación por bloques (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 9) método de Adams y Sloper o APFAA (grupos tioéteres, S-S) (Pearse, 1968 - 1972; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 10) método de Adams y Sloper, variante de Lillie o APAAA (grupos tioéteres, S-S) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 11) APYAT (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 12) APAAT (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 13) APFAT (las oxidaciones seguidas por metacromasia con azul de toluidina ponen de manifiesto sustancias con grupos tioles y tioéteres) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 14) método de Pearse o APAS (grupos tioéteres, S-S) (Pearse, 1968 - 1972); 15) método de Pearse, variante de Lillie o APFS (grupos tioéteres, S-S) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970) y 16) método de Gomori o fucsina parahaldeído con oxidación (grupos tioéteres, S-S y grupos tioles, S-H) (Martoja & Martoja-Pierson, 1970).

QUITINA:

Las técnicas utilizadas fueron: 1) método de Schulze, en preparados pretratados con hidróxido de potasio al 50 % o ácido clorodioxiacético (diaphanol) y luego

coloreados con la solución de cloruro de zinc - iodo - yoduro de potasio (Gabe, 1968; Pearse, 1968 - 1972) y 2) variante del método de Schulze, en preparados pretratados de igual manera que en el caso anterior y coloreados con la solución de líquido de Lugol - solución diluida de ácido sulfúrico (Gabe, 1968; Pearse, 1968 - 1972).

CALCIO: (forma iónica)

Las técnicas utilizadas fueron: 1) método de von Kossá, por sustitución con nitrato de plata (Gabe, 1968; Martoja & Martoja-Pierson, 1970); 2) método con negro de eriocromo T (Pearse, 1968 - 1972); 3) método de Dahl y McGee Russel, con rojo de alizarina S (Gabe, 1968; Martoja Martoja-Pierson, 1970) y 4) descalcificado con ácido clorhídrico al 0,5 % en alcohol absoluto o citrato de amonio al 10 % (Martoja & Martoja-Pierson, 1970).

b) Metodología para las cápsulas de los huevos:

Las cápsulas de los huevos son puestas por los animales preferentemente en las superficies orgánicas (hojas de lechuga, etc.). Es por ello que introducíamos en el cultivo, láminas de 5 cm de lado y 0,5 mm de espesor de polietileno, para recoger las capsulas. Láminas y cápsulas eran fijadas juntas, y para ayudar la penetrabilidad de los líquidos fijadores se efectuaban, con un escarpelo, cortes paralelos al eje mayor de la cápsulas.

Los fijadores utilizados fueron: los líquidos de Baker, de Helly, de Diaccio y formol neutro 4%. Las cápsulas se incluyeron según las técnicas de Carayon, doble inclusión de Peterfi y celoidina - parafina de Apathy (Gabe, 1968). Fueron cortadas en forma total y seriada en cortes de 8 a 10 μ m de espesor, para ser éstos coloreados con el tricrómico de Masson, hematoxilina de Carazzi - eosina tri-APS. Para el estudio de su morfología, otras cápsulas fueron montadas "in toto" en medios acuosos con acetato de potasio: de Schultze, de Highmann y de Wellings (Gray, 1975), alcohol polivinílico y goma - jarabe de Apathy, previa coloración con hematoxilina de Carazzi, hematoxilina de Groat, hematoxilina ácida de Eherlich y carmín borásico de Grenacher (Langeron, 1934; Gabe, 1968).

Con el objeto de ensayar en las cápsulas, las sustancias encontradas en las secreciones del tracto genital hembra, se realizara en ellas la misma metodología de preparación y detección que en el tracto hembra.

Para el estudio ultraestructural, las cápsulas fueron tratadas como se indica en la metodología general.

extremidad distal en un aparato coagulador macho o complejo penial (Moretto & Nahabedian, 1980).

El "carrefour" es la región en donde se efectúa la selección de los productos sexuales, hacia la correspondiente al comportamiento sexual del individuo.

A - Ovotestis:

Está formado por pequeños sacos o folículos, expansiones de una cavidad colectora común o atrio, que es posterior. Los sacos de la región ventral del órgano se abren en grupos de amplios divertículos anteriores al atrio, constituyendo la parte más gruesa del ovotestis. En la región dorsal, cada saco se abre en el atrio directamente. El atrio se continúa distalmente en el preatrio, parte más dilatada donde no desemboca saco alguno.

En la entrada de cada saco está localizado el epitelio germinativo, cuyo borde es más alto que el resto del epitelio del atrio y que fue llamado anillo germinal epitelial por Joosse & Reitz (1969). Casi todo el saco no posee epitelio propio, sino que su pared está constituida por la capa de Ancel (Ancel, 1902; Aubry, 1954a y b; Pan, 1958), no por un epitelio pavimentoso como señalan Barth & Jansen (1959).

Nuestro análisis de la capa de Ancel determina que es una muy delgada capa de tejido conectivo fibroso formado por:

a) fibroblastos: células fusiformes con núcleos ovales claros, con cromatina en gránulos, distribuidos irregularmente y nucléolo visible;

b) fibrocitos células fusiformes con núcleos elipsoidales oscuros con gránulos de cromatina grandes. La relación entre fibroblastos y fibrocitos es de 9:1.

c) células pigmentadas:

I) células con pigmento negro:

Están ubicadas formando exteriormente, un estrato regular en la pared del saco, son células estrelladas con núcleo oscuro excéntrico.

II) células con pigmento ocre:

Forman grupos por fuera del estrato de las células con pigmento negro, entre los divertículos. Poseen forma irregular, a veces esféricas, dando la apariencia de poseer movimientos ameboidales y sus núcleos son periféricos y claros.

En la capa fibrosa de la pared de los folículos, los métodos de Van Gieson, de Mallory y de Unna ponen de manifiesto una trama muy cerrada de fibras colágenas, que resultan APS positivas. Con el MET se demuestra la presencia de una lámina basal (Fig. 8 E).

Desde el borde proximal del epitelio germinativo funcional se desprenden las células que darán origen a la línea masculina y femenina de gametas y que

maduran desplazándose hacia el fondo de cada saco (Merton, 1930; Richter, 1935; Bretschneider & Raven, 1951; Barth & Jansen, 1962; Joosse & Reith, 1969) (Fig. 1 B).

La línea masculina aparecería en el borde del epitelio germinativo, como una célula de mayor tamaño que soporta a otras menores en talla: la célula soporte es una célula nodriza y las pequeñas, las espermatogonias (Fig. 1B).

En el primer estadio o estado en "roseta" la célula nodriza comienza a desplazarse hacia el fondo del saco manteniéndose unida a las espermatogonias (Fig. 1 B). A medida que aumenta el número de células sexuales machos, la célula nodriza móvil se achata cuando lleva 64 espermatogonias y ya ha recorrido unas 2/3 partes del largo del saco, el conjunto celular se denomina estado "epitelioide" (Figs. 1 A y 3 A). En él las células superiores germinales, juntas tienen el aspecto de un epitelio cúbico simple; hasta este momento las seis divisiones fueron mitóticas. En lo que resta de su trayecto hasta el fondo del saco, el grupo de espermatogonias se transforman en espermatocitos primarios al aumentar su volúmen y aclararse su núcleo, entrando todas sincrónicamente a la primera división meiótica o de maduración. Luego, sin cambio de volúmen, pasan a la segunda división de maduración, para formar un grupo de 256 espermátidas. Los estadios meióticos no presentan diferencias con lo expuesto por Patterson & Burch (1978).

Cuando las espermátidas van transformándose

en espermatozoides, la célula nodriza se expande y se hace redonda. Una vez aparecidos los espermatozoides, la célula nodriza presenta vacuolas, que se interpretan como material fagocitado, proveniente del citoplasma de las espermatidas en transformación (Barth & Jansen, 1960). Al final de espermatogénesis los espermatozoides típicos presentan sus cabezas implantadas en el citoplasma de las células nodrizas (Fig. 1 B). Esta célula, en su biología, sufre un proceso de citólisis, lo que produce la liberación del paquete isogónico de espermatozoides maduros el cual pasa al atrio del ovotestis. La célula nodriza antes de su destrucción presenta un núcleo muy picnótico, llevando en su citoplasma vacuolas con un contenido de color amarillo, sustancia que será liberada en forma de esferas amarillas luego de la destrucción de la célula. El ciclo que cumple esta célula se asemeja mucho al ciclo de las células de Sertoli de los vertebrados (Aubry, 1954a).

Los estadios del desarrollo de las gametas hembras, son similares a los observados por Griffond & Bonzoni-Sungur, (1986) en Helix aspersa y Jong-Brink, Wit, Kraal y Boer (1976), en Biomphalaria glabrata. En el epitelio germinativo, las ovogonias se presentan formando grupos de cuatro a seis células (Fig. 1 B). Ellas poseen núcleos claros, ovales, con cromatina en granos muy pequeños y con un nucleólo relativamente pequeño. Las ovogonias, recubiertas, cada una, por 2 a 8 células nodrizas, se transforman en ovocitos jóvenes. Cada conjunto se desplaza al fondo del folículo,

convirtiéndose, la gameta, en el llamado ovocito previtelino, con un nucléolo bien visible (Figs. 1 B y 8 A). Una vez allí, se detiene, observándose la formación de un espacio folicular (Abdel Malek, 1954), que puede quedar virtual (Fig. 8 D). Luego, el ovocito completa la etapa vitelogénica.

Los ovocitos maduros, prontos a ser evacuados de los folículos, son redondos, con núcleos muy claros y nucléolos relativamente pequeños. material APS positivo aparece en su citoplasma, tomando muy poco el azul Alcian, detectándose, con las técnicas adecuadas, glucógeno gotas muy pequeñas de lípidos.

Con el MET, en el citoplasma se observan numerosas mitocondrias pequeñas, entre las cuales se disponen gránulos de vitelo, con un cuerpo cristalino regular en su interior (Figs. 8 B y 8 C). También se presentan una cantidad de pequeños aparatos de Golgi y cisternas del retículo endoplasmático liso y muchas del granular. Periféricamente, en el citoplasma del ovocito se presentan annulate lamellae, especialmente en la zona vecina a la pared del folículo. La pared del ovocito maduro, presenta pocas microvellosidades espaciadas hacia el espacio folicular (Fig. 8 D).

En el fondo de los folículos, se encuentran ovocitos creciendo rodeados por sus células nodrizas; otras células nodrizas con su carga de células sexuales macho en maduración y células o restos de células nodrizas, tanto de la línea hembra como macho. Junto con estos elementos, se

distingue un acúmulo de sustancia granular llamada, por Barth & Jansen (1962), "chaotischen Masse" ("masa caótica"). Cada uno de los folículos del ovotestis, es llamado por nosotros, saco de maduración (Fig. 1 B).

La "masa caótica" está formada por: a) una matriz granular - globular; b) cuerpos positivos a los estudios para la basofilia (cuerpos basófilos); c) esferas amarillas, que aumentan su coloración con la coloración de Mann - Dominici y se tiñen en verde con la de Gomori (Moretto & Nahabedian, 1982). Las esferas se ubican en la matriz, hacia la luz del saco. Por consiguiente, la "masa caótica" está formada por la matriz, los cuerpos basófilos y las esferas amarillas (Fig. 5 C).

La "masa caótica" confinada en el fondo sacular delimita la localización de las anteriores células. Es así que podemos considerar al saco o divertículo del ovotestis, dividido en tres zonas: 1) una zona de generación de gamogonias (epitelio germinativo); 2) una zona de maduración propiamente dicha, en la que los ovocitos y las células nodrizas de la línea macho, posan directamente sobre la pared del divertículo y 3) una zona más interna en donde se acumula la "masa caótica" (Fig. 1 B). Algunas esferas amarillas pueden ser encontradas en la luz del atrio o preatrio.

Ocupando el fondo del saco visceral y rodeando el ovotestis y la glándula digestiva, se encuentra el

llamado tejido vesicular (Blasenzellen) de Baecker (1932) nominado por Carriker & Bilstad (1946) y Pan (1952). Es considerado un tejido de reserva. Sus células son muy grandes, elipsoidales, con núcleo excéntrico, con citoplasma que presenta glóbulos intensamente APS positivos.

Se observó que los ovocitos que se encuentran en los sacos de maduración más largos y ramificados de la parte ventral, son los más numerosos maduran más pronto. Esa región del ovotestis es limitrofe con la glándula digestiva, lo que sugiere una relación con la vitelogenénesis. (Joosse & Reitz, 1969).

El atrio del ovotestis es el colector de los productos gonadales maduros generados en los sacos de maduración. Está revestido por un epitelio en donde se encuentran dos tipos celulares: un tipo con cilias y otro no ciliado. Las células ciliadas predominan hacia el preatrio son escasas cerca del anillo germinal epitelial. Las células no ciliadas poseen núcleos basales, de redondos a ovales, con cromatina en gránulos gruesos; en el citoplasma se encuentra glucógeno, en la zona central y gotitas de lípidos, en la zona basal.

Una túnica delgada, formada por tejido conjuntivo, algunas fibras musculares y células con pigmento negro, recubre exteriormente a todos los órganos del sistema reproductor (Moretto & Nahabedian, 1987).

La pared del preatrio puede distenderse. En el epitelio de su parte ventral son más numerosas las células ciliadas. Estas poseen cilias más largas que las del atrio constituyen un gonostoma o embudo que comunica con el ducto hermafrodita. El revestimiento conectivo es similar al que posee el atrio, pero con una presencia mayor de fibras musculares.

En el lumen del preatrio pueden observarse paquetes isogénicos de espermatozoides autóctonos, oocitos maduros y también grandes esferas amarillas. A estas últimas las hemos observado tanto en animales vírgenes, como en los animales que han copulado. En los animales con espermatozoides foráneos, se observó, que éstos estaban asociados a las esferas amarillas, con sus cabezas incluidas en la sustancia de las esferas y sus colas en el exterior.

B - Ducto hermafrodita:

El ducto hermafrodita u ovispermático tiene un primer tramo sinuoso muy corto, para luego agrandar su diámetro formando divertículos laterales (las vesículas seminales), en la región media y detras de la glándula digestiva.

El primer tramo, corto y sinuoso del ducto hermafrodita es el responsable de la formación de tejido neogonádico, capaz de la restitución de la fertilidad en individuos pre-púberes castrados, no así la zona de las

vesículas seminales (Vianey-Liaud, 1972). Este hecho señala que el primer tramo del ducto, posee elementos celulares con potencialidad en la neoformación de la gonada.

El epitelio de las vesículas no es ciliado, sus células son prismáticas, bajas, posee núcleos basales con cromatina en gránulos medianos y un nucléolo. Este no es un epitelio sincicial, como la afirmaron otros autores (Aubry, 1956, 1961). En el conectivo, fibras musculares acompañan la base del epitelio de los divertículos.

El epitelio del resto del ducto hermafrodita es ciliado. Es un epitelio simple de células angostas, con núcleo a media altura, claros, con gránulos de cromatina de tamaño mediano a grande; el citoplasma es finamente granulado y con glucógeno, también se observan largas raíces ciliares. En individuos maduros las vesículas seminales, siempre llevan espermatozoides.

El ducto continúa hacia la parte ventral, haciéndose cilíndrico y angosto, presentando un epitelio cúbico - ciliado, semejante al ciliado del primer tramo sinuoso y una capa conectiva de similares características que los ya descritos.

C - Glándula del albumen:

Esta glándula posee una estructura tubular

compuesta, formada por adenómeros cortos que desembocan en tractos glandulares, para coincidir todos éstos, en un ducto excretor ciliado por el cual pasa la secreción al "carrefour".

El epitelio simple de los adenómeros y el de los tractos glandulares está formado por células secretoras y entre éstas, en número muy reducido, se encuentran células ciliadas.

En las células secretoras se diferencian los estadios del ciclo secretor, estudiado por Alaphilippe (1959). En el estado de restitución, la célula se presenta cúbica con núcleo basal, un nucléolo y su cromatina dispuesta en gránulos de tamaño mediano contra la carioteca. La célula ya restituida presenta un núcleo obscuro y polimorfo por compresión de la secreción; ésta es fuertemente AFB positiva, no se colorea con tianina, ni con azul de toluidina. Estas células secretan galactógeno (von Brand & Files, 1947).

Las células ciliadas adoptan una configuración de pirámide invertida con el vértice comprimido y prolongado hasta la base del epitelio, son las llamadas células tetraédricas (Moretto & Nahabedian, 1978). La base de la pirámide lleva las cilias, su núcleo es claro y distal, con pocos gránulos de cromatina y se observan gránulos de glucógeno. Estas células son llamadas células centrotubulosas (cellules centrotubuleuses) por Cavalieri & Beylot (1902) y descritas por Baecker (1932) y Nisland & Goudsmit (1969) para *Stilomatophora*; Holm (1946) y Alaphilippe (1955) las describen llamándolas centroacinosas para *Basomatophora* y

se prolonga en la cámara macho o selectora la cual se hace anterior e izquierda. El ducto hermafrodita desemboca desde atrás y tangencialmente en la cámara macho. El vas efferens nace en la misma cámara, en la conexión con el ducto hermafrodita y emerge de la región izquierda. El oviducto se proyecta desde la cámara hembra, ventralmente y corre paralelo al vas efferens, hacia la cabeza del animal (Fig. 6 A).

El epitelio de la cámara hembra es simple, ciliado con células prismáticas, los núcleos claros, ubicados a media altura, con gránulos de cromatina de tamaño mediano, dispuestos irregularmente. Las cilias batan en una secreción APS positiva. Otras células, típicamente mucosas, se encuentran entre las ciliadas, poseen núcleos oscuros basales; Dos tipos de células mucosas son distinguidas con el tricrómico de Masson, una con cisternas que aparecen en azul y otras en rojo.

El epitelio que tapiza la unión de la cámara macho con la cámara hembra y el oviducto es similar al descrito anteriormente, pero unas cuatro veces más alto. Observamos en su zona basal, células piriformes intraepiteliales, con núcleos grandes que llevan cromatina en gránulos medianos homogéneamente distribuidos (Fig. 5 A). En otros pulmonados, a estas células se le atribuyó una innervación catecolaminérgica como del sistema aminérgico y las llamamos paraneuronas del tipo I y II (Brisson & Collin, 1977; Brisson, Régnaud & Collin, 1977; Brisson & Collin, 1980; Hartwig, Brisson, Lyncker & Collin, 1980; Brisson, 1982).

Brisson (1982) sugiere un juego entre un sistema intrínseco formado por las células intraepiteliales y más particularmente por las paraneuronas bipolares (Tipo II) receptoras sistema extrínseco constituido por células neurotransmisoras de la túnica conjuntiva - muscular.

La cámara macho o estractor está tapizada por epitelio simple ciliado, de células cilíndricas con una media altura, obocorne. Este epitelio disminuye su altura hacia la cámara hembra.

musculatura

longitudinales internas y circulares externas. Ocupa parte de la pared de los sacos. Esta cubierta muscular permite la dilatación del saco. La cámara hembra, cuando dilatada, toma una forma elipsoidal.

E - Oviducto:

El oviducto es el ducto, que naciendo en la cámara hembra o saco de fertilización llega hasta la vagina, presentando en su recorrido un epitelio simple ciliado glandular, relativamente muy alto, en el que predomina uno u otro tipo celular según sus regiones.

Las células ciliadas son de tres tipos: tetraédricas y las filiformes. Las primeras se localizan solas en pequeños grupos entre las extremidades distales de las

células glandulares, visualizándose el citoplasma como un trazo desde la base del epitelio. Los núcleos, claros y ovales, con cromatina finamente granulada, se sitúan en parte de la pirámide invertida. Las filiformes tienen un citoplasma delgadísimo, visible también como un simple trazo entre las células glandulares, se expanden algo en el borde externo del epitelio, en donde lleva cilios. Sus núcleos, poseen las mismas características que los anteriores pero más elongados y están en la mitad del trazo citoplasmático. En concordancia con lo expuesto por (1958) Jong-Ernik (1959), estas células ciliosas llevan glucógeno en el citoplasma. Después hemos encontrado también, que ellas presentan gotitas de lípidos (Fig. 5) estas células especialmente las del primer tipo, fueron denominadas células sustentaculares por Parsons & Dealander (1958), Duncan (1960b) las llama células intersticiales.

Las células glandulares presentan tres aspectos. Unas, columnares, con secreción intracitoplasmática amorfa o granular, con núcleos sub-basales nucleolos acéntricos. Otras, globosas - elipsoidales, con citoplasma finamente trabeculado sin secreción figurada y con una estructura nuclear a menudo muy modificada. Y las últimas, ovoidales, sin secreción intracitoplasmática y semejante a las anteriores.

El oviducto presenta distintas regiones caracterizadas por su estructura y el epitelio glandular

predominante, a las cuales nosotros denominamos: a) región pre-cotecal; b) glándula cotecal y c) región post-cotecal.

A) Región pre-cotecal:

Es un ducto cilíndrico que aumenta de sección hacia la parte ventral. Dos tramos se diferencian sus distintos epitelios glandulares. El primero se extiende desde el "carrefour" hasta el codo del oviducto pre-cotecal, donde aumenta abruptamente su sección, representando el primer cuarto del trayecto total de esta región, mientras que las tres cuartas partes restantes presentan otro tipo de epitelio glandular.

El primer epitelio está formado por células glandulares columnares con núcleos ovales, distribuidos en posición basal hasta media altura. Su cromatina está concentrada en gránulos medianos dispuestos apretadamente poseen un nucléolo acéntrico, el citoplasma se presenta vacuolado y se tiñe con un vivo color con la fucsina básica (magenta) del tricrómico de Hollande.

En las últimas tres cuartas partes del ducto, además de células columnares se presentan células globosas elipsoidales. Estas células tienen núcleos ubicados a media altura, muy modificados, polimorfos, dando formas a menudo estrellados y picnóticos, el citoplasma es finamente vacuolado, sin secreción figurada (Fig. 6 C). Por debajo del epitelio en el tejido conectivo se ubican una o dos fibras

Las células ovoidales del surco no ciliado tampoco presentan secreción intracitoplasmática aparente y hacen recordar el mismo aspecto que las células gibbosas. Las células glandulares columnares en su mayoría llevan glóbulos de secreción eritrófila. Entre las células epiteliales antes descritas, se intercalan típicas células ciliadas tetraédricas y filiformes. Se observa una capa conectiva similar a la ya descrita para el oviducto pre-ootecal.

C) Región post-ootecal:

Su sección transversal es elíptica, con dos surcos ciliados situados en los extremos de su eje mayor (anterior - posterior con respecto al cuerpo del animal). Estos surcos tienen la misma estructura histológica que el surco ciliado de la glándula ootecal, que se prolongan en la región post-ootecal. El surco de la glándula ootecal, con células ovoidales, hacia la mitad de la región post-ootecal se transforma en un surco ciliado. Una capa muscular continua rodea la base del epitelio del lumen del órgano y está formado por una gruesa musculatura longitudinal interna y otra relativamente débil circular externa.

El epitelio del órgano es ciliado - glandular y va disminuyendo de altura hasta la vagina. Está constituido por células glandulares, células ciliadas, las tetraédricas y las filiformes y otras células en la que no se observa secreción aparente. Los dos surcos ciliados separan

celulares: uno ciliado, otro glandular y un tercero intersticial. Las células ciliadas son prismáticas, con núcleos ovales y algo claros donde se pueden observar algunos gránulos de cromatina y presenta largas cillas. Las células glandulares son muy orangeófilas (tricroómico de Mallory); sus núcleos son algo ovales, con cromatina en gránulos medianos y nucléolo bien visible. Las intersticiales aparecen espaciadas, con núcleos basales y claros. Este epitelio reposa sobre una muy conspicua membrana basal. En la vecindad del gonoporo, la vagina posee una musculatura formada por una capa interna y otra externa de fibras musculares longitudinales. Entre ambas se encuentra una capa de fibras circulares. Las 3/4 partes restantes de la longitud del órgano presentan solamente una bien desarrollada capa interna de fibras longitudinales y otra débil externa de fibras circulares.

En el tejido conjuntivo, que rodea a la vagina, se observan células con pigmento ocre y otras células globosas con núcleo oval, que puede llevar 2 nucléolos, con cromatina en gránulos gruesos y cuyo citoplasma es APS positivo pero no metacromático con tionina azul de toluidina. Estas últimas son reconocidas como células mucosas y también señaladas por Baecker (1932), Carricker y Bilstad (1946) y Pan (1958). También observamos otro tipo celular, similar al anterior, pero con citoplasma APS positivo y β-metacromático con tionina o azul de toluidina. Se trata de las llamadas células de Leydig por Alaphilippe (1956). Estos tipos

ducto colector de la glándula.

El epitelio de los divertículos prostáticos es ciliado-glandular similar al del vas efferens. Las células ciliadas son en su mayoría del tipo filiforme. Las glandulares con núcleo basales, poseen un citoplasma con secreción globular. Histoquímicamente podemos distinguir tres tipos de células. Un tipo está ubicado en el canal colector. Su secreción es proteica con grupos tioéteres. Los otros dos tipos restantes están localizados en los divertículos. Uno de esos tipos ocupa la zona basal de los divertículos y el otro, la zona distal de los mismos. Las células glandulares localizadas en la zona basal secretan una mucosustancia neutra. Aquellas de la zona distal, secretan una proteína con aminoácidos aromáticos.

Pocas fibras musculares circulares (de 2 a 4), forman parte de la pared del órgano.

J - Vas defferens :

El vas defferens es la parte de la vía macho que va desde la glándula prostática hasta el complejo penial. A lo largo de su trayecto no presenta el mismo aspecto. En su unión con la glándula prostática es achatado y con poca musculatura, para transformarse, a medida que se acerca hacia el complejo penial, en cilíndrico y robusto por el desarrollo de su musculatura longitudinal externa.

El epitelio que tapiza el lumen es ciliado

y disminuye su altura hacia el complejo penial, los núcleos son elipsoidales con cromatina en gránulos gruesos dispuestos irregularmente. Las ciliias son largas densas. Este epitelio posee una delgada membrana basal que aumenta espesor hacia la parte distal. La capa muscular varía desde unas 2 a 3 fibras circulares, cerca de la glándula prostática, hasta convertirse en dos capas de fibras musculares bien constituidas, la interna circular y la exterior longitudinal. Los núcleos de las fibras musculares son claros con cromatina en gránulos grandes. La reacción APS y la del carmín de Best, demuestran la presencia de glucógeno en células musculares.

K - Complejo penial:

En la posición de reposo, del complejo penial, el gonoporo macho da acceso a una bolsa musculosa, diferenciada en dos regiones: la distal o prepucio y la proximal o vaina del penis. El límite entre estas dos regiones está señalado por una constricción, con una zona interna diferenciada: el diafragma. En el fondo de la vaina, se eleva el penis como continuación de su pared.

El prepucio posee su luz tapizada por un epitelio de células prismáticas, con núcleos basales elipsoidales y cuyos ejes mayores son paralelos a los lados mayores de sus células. La cromatina de estos núcleos está agrupada en gránulos de tamaño grande y mediano, dispuestos

penial exterior, que aumenta su altura hacia su extremo en una forma similar al epitelio de la vaina del penis. Es un epitelio simple, cúbico bajo, con núcleos elipsoidales algo oscuros, con gránulos de cromatina gruesos con disposición irregular. La membrana basal se presenta muy notoria disminuye de espesor hacia la punta del penis.

El epitelio que tapiza el ducto del penis es continuación del epitelio del vas defarens y va decreciendo en altura a lo largo de todo el penis. Es un epitelio simple, mas o menos plano, ciliado con núcleos elipsoidales con cromatina en grumos grandes distribuidos irregularmente, el citoplasma es claro, reticulado y con raices ciliares bien visibles, las ciliias son largas pero de densidad menor que en el vas defferens. La membrana basal es notoria.

La pared muscular del penis, en toda su longitud posee una cavidad a la cual se la denominó en Biomphalaria peregrina, seno penial (Moretto & Nahabedian, 1980) y que está en comunicación directa con el hemocoele por poros situados en el casquete muscular. Una arteriola penetra a esta altura al seno penial y lo recorre hasta cerca de su extremo distal. Las fibras musculares longitudinales predominan en el nacimiento del penis, para ir desapareciendo hacia la punta de este órgano. Lo inverso se observa respecto a las fibras circulares. En la región del penis donde se encuentran ambos tipos de fibras bien desarrollados, la longitudinal está junto a la capa circular externa y separada de la circular interna por el seno penial.

2 - Organografía general del sistema reproductor en
Biomphalaria.

Los sistemas reproductores de Biomphalaria glabrata, B. peregrina y B. tenacochila presentan el mismo modelo de organización (Fig. 1 A). Las dimensiones de células, tejidos y órganos, varían en las tres especies, como indican las tablas del 1 al 20.

Tabla 1: Dimensiones de las células del tejido conectivo células pigmentadas.

MEDIAS en μ m VARIANZAS (...)		<u>S. peregrina</u> n = 25	<u>S. tenascipala</u> n = 25	<u>S. alabrata</u> n = 25
fibroblastos	tamaños	2,1 por 7,9 (0,71 - 2,95)	2,7 por 11,0 (1,03 - 4,03)	2,4 por 11,2 (0,58 - 4,32)
	núcleos	1,8 por 4,1 (0,66 - 1,56)	2,1 por 4,8 (1,97 - 1,83)	2,3 por 5,2 (0,69 - 1,87)
fibrocitos	tamaños	1,5 por 7,0 (0,42 - 2,61)	2,5 por 8,9 (0,91 - 3,07)	2,1 por 9,6 (0,60 - 3,27)
	núcleos	1,4 por 3,8 (0,57 - 1,33)	2,3 por 4,1 (0,77 - 1,53)	1,9 por 4,8 (0,82 - 1,35)
células con pigmento negro	tamaños	2,0 por 20,3 (0,75 - 5,87)	1,8 por 20,1 (0,73 - 6,83)	2,6 por 25,8 (1,39 - 7,29)
	núcleos	1,9 por 4,6 (0,67 - 1,65)	1,5 por 4,0 (0,57 - 1,51)	2,5 por 5,7 (0,92 - 2,11)
células con pigmento ocre	tamaños	18,2 por 11,7 (6,22 - 4,07)	21,9 por 16,7 (6,85 - 7,86)	16,3 por 22,7 (5,47 - 7,98)
	núcleos	2,2 por 3,8 (1,03 - 1,26)	2,5 por 3,8 (0,83 - 1,37)	3,9 por 4,4 (1,31 - 1,51)

Tabla 2: Dimensiones de las células de la línea germinal macho del avotestis.

MEDIAS en μm VARIANZAS (...)	<i>B. peregrina</i> n = 25	<i>B. tenagophila</i> n = 20	<i>B. olabrata</i> n = 25
espermatogonias anchos	4.1 (1.36)	5.0 (1.66)	7.6 (2.13)
estado alturas	8.8 (2.97)	9.1 (3.02)	12.3 (4.46)
"roseta" núcleos	3.9 (1.28)	4.9 (1.66)	5.8 (1.92)
espermatoцитos anchos	6.2 (2.39)	6.2 (1.66)	9.3 (2.67)
estado alturas	9.2 (3.01)	10.1 (3.17)	14.5 (4.86)
"epiteloides" núcleos	5.1 (1.74)	5.8 (2.24)	6.6 (2.22)
cél. nodrizas alturas	4.5 (1.14)	3.2 (3.24)	4.6 (4.65)
en "roseta" núcleos	3.7 por 8.9 (1.27 - 3.15)	3.5 por 13.7 (1.10 - 4.93)	3.7 por 15.8 (1.21 - 4.41)
cél. nodrizas alturas	3.7 (1.66)	3.4 (1.56)	3.7 (1.39)
en "epiteloides" núcleos	2.5 por 10.3 (0.68 - 1.86)	3.8 por 15.9 (0.24 - 3.09)	3.9 por 16.2 (1.57 - 3.13)
cél. nodrizas alturas	16.3 (4.37)	15.8 (3.61)	20.0 (2.78)
est. con núcleos	6.8 por 10.2 (2.14 - 3.66)	6.7 por 11.7 (1.65 - 2.77)	7.2 por 14.5 (4.61 - 2.51)
espermatidas nucléolos	2.6 (0.73)	1.5 (1.02)	2.1 (0.85)
espermatozoides	1.5 por 3.2 (0.56 - 1.77)	1.5 por 3.7 (0.63 - 1.52)	1.8 por 4.7 (0.23 - 1.72)
esferas amarillas en células nodrizas	9.0 por 13.5 (2.31 - 5.85)	12.1 por 16.9 (2.50 - 7.21)	11.6 por 17.4 (3.38 - 6.89)

Tabla 3: Dimensiones de las células de la línea germinal hembra del ovotestis.

MEDIAS en μm VARIANZAS (...)		<u>R. peregrina</u> n = 25	<u>R. tenacophala</u> n = 20	<u>B. glabrata</u> n = 25
ovogonia	diámetros	5,1 (1,23)	7,2 (1,52)	11,6 (2,36)
	núcleos	2,3 (1,78)	2,3 (1,62)	5,1 (1,62)
	nucleólos	0,4 (0,35)	0,5 (0,25)	0,9 (0,38)
ovocito joven	diámetros	5,2 (1,30)	5,5 (2,62)	9,1 por 14,7 (2,64 - 3,56)
	núcleos	2,9 (1,54)	2,5 (1,32)	7,6 (2,61)
	nucleólos	0,5 (0,20)	0,5 (0,29)	1,1 (0,29)
ovocito previtelino	diámetros	19,9 por 29,0 (3,89 - 4,11)	20,8 por 27,4 (4,91 - 4,85)	22,2 por 32,4 (5,42 - 6,17)
	núcleos	9,7 (2,13)	10,4 (2,37)	12,3 (2,31)
	nucleólos	5,0 (1,28)	4,2 (1,03)	6,2 (0,67)
ovocitos maduros	diámetros	46,8 por 76,7 (15,16-29,76)	58,3 por 62,5 (22,34-19,03)	56,6 por 79,7 (17,86-28,44)
	núcleos	27,4 por 51,1 (5,82 - 11,96)	24,2 por 24,7 (5,98 - 7,41)	20,0 por 44,4 (7,62 - 15,08)
	nucleólos	18,5 (5,88)	9,8 (3,76)	13,6 (3,06)
cél. nodrizas	núcleos	6,8 por 19,5 (1,95 - 6,75)	5,4 por 10,3 (1,12 - 2,98)	6,7 por 10,5 (2,20 - 2,63)
"masa caotica"	matriz	3,7 a 5,9 (- - - -)	3,3 a 7,2 (- - - -)	4,7 a 10,4 (- - - -)
	cuerpos basófilos	4,1 a 10,0 (- - - -)	5,2 a 11,3 (- - - -)	8,2 a 15,5 (- - - -)
	esferas amarillas	36,5 a 68,4 (- - - -)	41,2 a 65,3 (- - - -)	59,1 a 78,3 (- - - -)
cél. tej. vesicular	diámetros	19,8 por 60,3 (7,40 - 22,41)	26,7 por 71,6 (11,11-21,65)	37,8 por 75,6 (13,17-27,83)

Tabla 4: Dimensiones de las células epiteliales del atrio y del preatrio del ovotestis.

MEDIAS en μm VARIANZAS (...)		<u>B.peregrina</u> n = 25	<u>B.tenacophila</u> n = 20	<u>B.clabrata</u> n = 25
atrio	alturas	5,8 (0,79)	6,9 (1,38)	7,2 (1,22)
células	anchos	6,7 (0,81)	8,1 (0,97)	8,5 (2,89)
no ciliadas	núcleos	2,7 por 4,9 (1,10 - 1,27)	1,6 por 3,6 (0,23 - 0,53)	2,4 por 4,8 (1,06 - 1,81)
atrio	alturas	5,8 (2,13)	6,9 (1,75)	7,2 (2,23)
células	anchos	8,4 (2,56)	10,7 (3,90)	11,1 (4,17)
ciliadas	núcleos	2,3 por 4,4 (0,59 - 1,66)	2,5 por 3,8 (1,02 - 1,15)	3,8 por 5,4 (1,43 - 1,92)
	cilias	5,2 (2,62)	6,1 (2,62)	6,3 (3,23)
preatrio	alturas	4,5 (1,17)	5,9 (1,83)	6,8 (0,79)
células	anchos	7,6 (0,97)	8,8 (3,47)	9,0 (1,36)
no ciliadas	núcleos	2,3 por 3,9 (0,95 - 0,69)	2,4 por 3,7 (0,61 - 1,33)	2,7 por 4,9 (0,77 - 1,88)
preatrio	alturas	4,5 (0,96)	5,9 (0,83)	6,8 (2,63)
células	anchos	8,6 (2,38)	10,5 (3,70)	11,6 (2,93)
ciliadas	núcleos	2,4 por 4,0 (0,74 - 1,16)	1,6 por 3,6 (0,35 - 1,14)	2,4 por 4,8 (0,91 - 1,39)
	cilias	9,5 (4,39)	12,4 (5,56)	10,9 (5,06)

Tabla 5: Dimensiones de las células epiteliales del ducto hermafrodita.

MEDIAS en μ m VARIANZAS (...)		<u>B.peregrina</u> n = 25	<u>B.tenacochila</u> n = 25	<u>B.glabrata</u> n = 25
epitelio del gonostoma	alturas	5,7 (1,62)	6,8 (0,79)	10,4 (2,57)
	anchos	2,8 (0,81)	3,0 (0,35)	3,3 (1,3)
	núcleos	2,7 por 3,9 (1,32 - 1,16)	2,1 por 3,8 (0,41 - 0,38)	2,8 por 5,7 (1,79 - 1,34)
	cilias	9,5 (4,83)	10,9 (5,08)	12,4 (5,44)
<u>vesículas seminales</u> epitelio ciliado	alturas	5,7 (1,85)	6,6 (1,68)	9,5 (2,20)
	anchos	2,2 (0,58)	2,6 (0,69)	3,8 (1,03)
	núcleos	1,9 por 3,3 (0,35 - 1,17)	2,5 por 3,4 (0,78 - 0,86)	2,5 por 3,8 (0,84 - 0,82)
	cilias	4,2 (1,72)	3,8 (1,41)	4,7 (2,01)
<u>vesículas seminales</u> epitelio no ciliado	alturas	9,5 (3,58)	11,4 (3,72)	12,3 (2,77)
	anchos	7,6 (1,22)	8,6 (3,23)	10,1 (3,05)
	núcleos	2,3 por 6,6 (0,65 - 0,96)	6,3 (1,51)	6,6 (2,38)
ducto hermafrodita	alturas	4,1 (1,11)	5,7 (1,41)	10,4 (2,39)
	anchos	3,8 (0,57)	4,7 (0,82)	3,3 (1,04)
	núcleos	4,2 (1,19)	3,4 (1,19)	2,8 por 3,8 (1,09 - 1,81)
	cilias	3,8 (1,73)	3,8 (1,21)	5,7 (2,32)

Tabla 6: Dimensiones de las células epiteliales de la glándula del albumen.

MEDIA en μm VARIANZAS (...)		<u>B.peregrina</u> n = 25	<u>B.tenacophila</u> n = 25	<u>B.olabrata</u> n = 25
<u>glándula del</u> <u>albumen</u> células glandulares	alturas	16,2 (4,60)	19,4 (6,06)	21,6 (6,12)
	anchos	18,1 (6,11)	21,7 (6,95)	28,5 (8,24)
	núcleos	6,3 por 9,0 (2,46 - 3,51)	6,8 (2,34)	7,6 (2,11)
tetraédricas	núcleos	2,1 por 2,2 (0,55 - 0,60)	2,1 por 2,3 (0,54 - 0,66)	2,6 por 3,3 (0,80 - 0,92)
filiformes	núcleos	1,1 por 7,5 (0,27 - 2,17)	1,4 por 8,9 (0,40 - 2,24)	1,6 por 9,5 (0,46 - 2,47)
epitelio del ducto excretor	alturas	9,7 (2,45)	11,4 (3,26)	18,6 (5,70)
	anchos	4,3 (1,28)	2,1 (0,62)	2,3 (0,77)
	núcleos	3,8 (1,09)	1,9 por 2,8 (0,54 - 0,75)	1,9 por 5,2 (0,66 - 1,88)
	cilias	6,7 (3,38)	5,6 (3,54)	6,7 (2,88)

Tabla 8: Dimensiones de las células epiteliales del oviducto pre-ootecal.

MEDIAS en μm VARIANZAS (...)		<u>B.peregrina</u> n = 20	<u>S.tanacetophila</u> n = 25	<u>S.glabrata</u> n = 25
oviducto	alturas	71.6 (24.19)	95.8 (28.50)	154.6 (49.59)
pre-ootecal	anchos	11.1 (4.14)	12.6 (4.58)	12.4 (4.29)
células columnares	núcleos	8.7 por 6.2 (0.87 - 2.34)	8.4 por 6.9 (1.12 - 2.77)	4.2 por 6.8 (1.23 - 2.08)
células globosas	anchos	14.2 (5.28)	15.6 (4.68)	22.4 (7.16)
	núcleos	3.3 por 6.5 (0.85 - 2.17)	3.9 por 7.7 (1.30 - 2.57)	4.8 por 12.0 (1.64 - 12.0)
tetraédricas	núcleos	2.2 por 2.9 (0.66 - 0.93)	2.4 por 3.4 (0.80 - 1.13)	2.9 por 4.1 (1.08 - 1.05)
filiformes	núcleos	1.9 por 10.2 (0.59 - 3.15)	2.2 por 11.6 (0.66 - 3.72)	1.6 por 8.8 (0.52 - 2.78)

Tabla 9: Dimensiones de las células epiteliales de la glándula cotechal.

MEDIAS en μm VARIANZAS (...)		<u>B.peregrina</u> n - 20	<u>B.tenacochila</u> n - 25	<u>B.ciebrata</u> n - 25
<u>oviducto</u>	anchos	22.6 (22.22)	22.6 (22.22)	22.6 (22.22)
<u>glándula</u>	anchos	7.2 (2.21)	8.3 (2.22)	10.2 (2.42)
<u>cotechal</u>	núcleos	3.8 por 5.7 (1.48 - 1.69)	4.0 por 7.3 (1.15 - 2.22)	4.1 por 6.2 (1.31 - 2.27)
<u>cél. columnares</u>				
<u>células</u>	anchos	9.1 (2.63)	11.9 (4.00)	12.1 (3.71)
<u>globosas</u>	núcleos	3.1 por 5.8 (1.04 - 2.03)	4.2 por 6.4 (1.33 - 2.32)	4.0 por 7.2 (1.19 - 2.10)
<u>tetraédricas</u>	núcleos	1.8 por 2.9 (0.55 - 0.80)	2.6 por 3.4 (0.69 - 0.94)	3.1 por 4.1 (0.86 - 1.09)
<u>filiformes</u>	núcleos	0.8 por 5.8 (0.22 - 1.62)	1.0 por 7.9 (0.34 - 2.35)	0.8 por 9.2 (0.25 - 3.10)

Tabla 10: Dimensiones de las células epiteliales del oviducto post-ovotecal.

MEDIAS en μ m VARIANZA (...)		<u>S. peregrina</u> n = 25	<u>S. tenacornis</u> n = 20	<u>S. ciabrata</u> n = 25
<u>oviducto</u>	alturas	59,3 (19,97)	71,3 (19,32)	132,6 (34,06)
<u>post-ovotecal</u>	anchos	5,9 (1,48)	5,3 (1,63)	6,8 (1,76)
<u>glándular</u>	núcleos	3,2 por 3,6 (1,19 - 1,01)	4,0 por 5,4 (1,05 - 1,35)	6,4 por 4,8 (1,79 - 1,49)
	cél. columnares			
<u>células</u>	anchos	9,1 (2,36)	11,9 (3,44)	12,0 (3,11)
<u>ovoidales</u>	núcleos	3,1 por 5,8 (1,09 - 1,72)	4,2 por 6,4 (1,17 - 1,66)	4,0 por 7,2 (1,34 - 2,30)
<u>tetraédricas</u>	núcleos	2,3 por 2,4 (0,73 - 0,69)	2,7 por 2,9 (0,76 - 0,97)	3,2 por 4,1 (1,01 - 1,06)
<u>filiformes</u>	núcleos	3,1 por 6,3 (0,80 - 1,32)	1,7 por 10,8 (0,48 - 3,02)	1,6 por 9,6 (0,46 - 2,71)

Tabla 11: Dimensiones de las células epiteliales de la bursa copulatrix y de su ducto excretor.

MEDIAS en μ m VARIANCIAS (...)		<u>S.peregrina</u> n = 25	<u>S.tenacochila</u> n = 20	<u>S.slabrata</u> n = 20
<u>bursa</u>	alturas	4,8 (1,34)	6,7 (1,73)	9,7 (3,24)
<u>copulatrix</u>	anchos	6,2 (1,79)	5,8 (1,57)	8,5 (2,93)
y su	núcleos	3,4 por 3,6 (0,87 - 1,00)	3,2 por 3,8 (0,82 - 0,95)	4,2 por 6,2 (1,57 - 2,17)
<u>ducto</u> <u>excretor</u>	espesores chapa estriada	1,2 (0,33)	1,2 (0,33)	1,6 (0,21)
<u>membrana basal</u>	espesores	0,8 (0,22)	1,0 (0,25)	0,8 (0,23)

Tabla 12: Dimensiones de las células epiteliales de la vagina y ciego vaginal.

MEDIAS en μ m VARIANZAS (....)		<u>R.peregrina</u> n = 25	<u>R.tenacochila</u> n = 20	<u>R.olabrata</u> n = 25
vagina y ciego	alturas	15,7 (4,40)	17,2 (4,88)	27,5 (7,71)
	anchos	6,5 (2,17)	6,8 (2,08)	12,8 (3,93)
vaginal	nucleos	3,2 por 6,8 (1,07 - 2,18)	3,4 por 7,8 (0,95 - 2,19)	6,0 por 12,5 (1,50 - 3,24)
	cilias	7,2 (3,06)	8,5 (3,65)	13,2 (5,74)
membrana basal		2,0 (0,56)	2,2 (0,60)	2,7 (0,73)

Tabla 13: Dimensiones de las células epiteliales del vas efferens.

MEDIAS en μ m VARIANZAS (....)		<u>B.peregrina</u> n = 25	<u>B.tenacochila</u> n = 20	<u>B.glabrata</u> n = 25
<u>vas efferens</u>	alturas	15,8 (4,85)	17,8 (5,49)	34,0 (10,13)
canaliculo	anchos	4,7 (1,31)	5,2 (1,46)	9,6 (2,70)
ciliado	núcleos	3,5 por 5,0 (1,08 - 1,49)	4,1 por 5,6 (1,12 - 1,72)	7,8 por 8,1 (2,50 - 2,20)
	cilias	7,8 (3,12)	8,6 (3,20)	13,9 (5,91)
<u>vas efferens</u>	alturas	61,7 (16,82)	70,6 (20,41)	125,4 (47,58)
tramo	anchos	8,5 (2,61)	9,7 (2,50)	17,2 (5,55)
glandular	núcleos	5,6 (1,61)	6,6 (2,02)	11,6 (3,56)
tetraédricas	núcleos	3,8 por 5,2 (1,06 - 1,42)	4,9 por 5,8 (1,37 - 1,85)	7,2 por 10,5 (2,23 - 2,85)
filiformes	núcleos	1,1 por 3,7 (3,34 - 1,15)	1,9 por 4,7 (0,52 - 1,44)	2,0 por 7,6 (0,63 - 2,16)

Tabla 16: Dimensiones de las células epiteliales del prepucio sus capas musculares.

MEDIAS en μ m VARIANZAS (...)		<u>B. peregrina</u> n = 25	<u>B. tenacophila</u> n = 20	<u>B. plabrata</u> n = 25
prepucio	alturas	10,3 (2,89)	13,6 (3,74)	10,3 (5,84)
	anchos	3,6 (1,01)	4,0 (1,23)	4,3 (1,18)
	núcleos	2,6 por 5,7 (0,72 - 1,39)	2,1 por 7,1 (0,65 - 1,21)	2,1 por 3,1 (0,58 - 2,48)
	cilias	16,1 (6,56)	18,1 (7,36)	20,3 (6,88)
	espesores mem. basal	3,0 (0,92)	3,8 (1,17)	4,3 (1,12)
espesores				
musc. circular int.		10,8 (4,82)	13,6 (5,54)	18,9 (7,70)
musc. longitudinal		68,1 (30,53)	78,7 (37,02)	108,9 (51,22)
musc. circular ext.		18,1 (7,86)	20,4 (7,95)	22,7 (11,78)

Tabla 19: Dimensiones de las células epiteliales del penis a la altura del diafragma y de las capas musculares.

MEDIAS en μ m VARIANZAS (...)	<u>S.peregrina</u> n = 25	<u>S.tenacochila</u> n = 20	<u>R.glabrata</u> n = 25
penis cerca alturas	4.0 (1.23)	4.5 (1.36)	6.3 (2.03)
del casquete anchos	7.1 (2.17)	2.0 (2.42)	10.6 (3.41)
epitelio núcleos	2.0 por 4.3 (0.61 - 1.32)	2.6 por 4.7 (0.78 - 1.42)	3.6 por 6.8 (1.16 - 2.19)
del cilias	6.0 (2.44)	6.1 (1.84)	8.2 (3.33)
lumen espesores mem. basal	1.2 (0.36)	1.3 (0.39)	1.8 (0.60)
espesores musc. circular int.	6.7 (2.91)	6.5 (2.64)	8.7 (3.78)
seno penial	16.6 (7.21)	19.2 (7.81)	25.5 (11.08)
musc. longitudinal	10.6 (4.60)	11.2 (4.56)	14.9 (6.47)
musc. circular ext.	4.3 (1.86)	4.6 (1.87)	6.4 (2.78)
penis alturas	2.3 (0.70)	1.9 (0.55)	3.2 (0.90)
epitelio anchos	6.0 (1.92)	6.2 (2.06)	8.3 (2.35)
que lo núcleos	1.8 por 4.9 (0.57 - 1.58)	2.0 por 5.2 (0.57 - 1.45)	2.5 por 6.8 (0.86 - 2.17)
recubre espesores mem. basal	1.4 (0.43)	1.6 (0.59)	1.8 (0.57)

Tabla 20: Dimensiones de las células epiteliales del penis a la altura del diafragma y de sus capas musculares.

MEDIAS en μ m VARIANZAS (...)	<u>B. peregrina</u> n = 25	<u>B. tenacophila</u> n = 20	<u>B. olabrata</u> n = 25
penis cerca alturas	2.1 (0.58)	2.3 (0.24)	3.3 (1.00)
del diafrag. anchos	7.7 (2.36)	8.4 (2.61)	12.3 (3.77)
epitelio núcleos	1.0 por 6.9 (0.28 - 2.11)	1.1 por 7.8 (0.33 - 2.41)	1.6 por 10.7 (0.49 - 3.18)
del cilias	6.1 (2.38)	6.8 (2.09)	8.7 (4.04)
lumen espesores mem. basal	0.1 (0.03)	0.1 (0.03)	0.1 (0.02)
espesores musc. circular int.	3.7 (1.48)	4.1 (1.56)	5.6 (2.24)
seno penial	12.3 (4.92)	12.8 (5.32)	20.5 (7.75)
musc. longitudinal	2.8 (1.12)	3.2 (1.24)	4.3 (1.79)
musc. circular ext.	13.7 (5.48)	15.4 (5.92)	20.8 (8.46)
penis alturas	3.1 (0.95)	3.5 (0.98)	4.9 (1.37)
epitelio anchos	5.0 (1.41)	5.7 (1.59)	8.0 (2.24)
que lo núcleos	2.0 por 3.0 (0.61 - 0.92)	2.2 por 3.6 (0.61 - 1.25)	3.1 por 4.8 (0.95 - 1.34)
recubre espesores mem. basal	0.8 (0.32)	0.9 (0.35)	1.2 (0.33)

II. La cápsula de los huevos en Biomphalaria:

1 - Morfología de la cápsula de los huevos.

En Hydrophila, las cigotas pasan al medio ambiente, protegidas por envolturas originadas en el tracto hembra del animal.

Cuando la cigota pasa por el "carrefour" y el tracto hembra, es rodeada por la secreción proveniente de la glándula del albumen y las distintas envolturas, denominadas terciarias (Bondsén, 1950).

La cigota y el albumen están rodeados por la envoltura terciaria de primer orden, llamada **membrana interna** (Nekrassow, 1928a, 1928b, 1929), que es general en todos los pulmonados dulciacuícolas. En los Physidae y Lymnaeidae, puede existir una **membrana externa** o envoltura terciaria de segundo orden. La cigota con el albumen y la membrana interna, constituye el ovum o huevo. Estos, están incluidos en una **sustancia gelatinosa** fundamental, limitada por una membrana terciaria de tercer orden, la **membrana o pared capsular** (Fig. 7 A). Todo el conjunto puede llamarse **cápsula**, la capsulae verae de acuerdo a Nekrassow (1928a, 1928b, 1929). En los Physidae y Lymnaeidae, una cubierta gelatinosa externa (pallium gelatinosum), se forma durante la puesta. En los Planorbidae ha sido encontrada una zona

membranosa externa que no llega a formar una envoltura es posiblemente formada por secreciones del pie (Bondesen, 1950). Envolturas cuaternarias, formadas por la secreción del pie del animal que ovopone, solo ha sido demostrada en los Ancyliidae y Acroloxidae. Estas presentan una estructura vesicular hialina, que rodea como cápsula externa a la membrana capsular, en este caso la cápsula entera.

En todos los pulmonados dulciacuáticos está presente la "cola terminal" o exitus terminalis. La cápsula puede quedar así, más o menos prolongada en un pico, un tubo o un lóbulo aplanado.

El exitus terminalis es cerrado y libre en Physidae y Acroloxus lacustris, pero en esta última especie, está cubierto por la envoltura cuaternaria. En los Lymnaeidae es generalmente abierto y libre, mientras que en los Planorbidae y Ancylus fluviatilis, es cerrado y gira más o menos hacia la masa central de la cápsula (condición adnate). El exitus terminalis adnate, es aquel que reposa sobre la masa central.

Según Bondesen (1950), se pueden realizar diagnósis por observación de las cápsulas de los huevos, mediante:

- 1) aspecto de la cápsula (consistencia gelatinosa o firme);
- 2) si es cerrada o no;
- 3) el número, forma y tamaño de los huevos;
- 4) si los huevos poseen o no una membrana interna y

externa:

5) el sentido de giro del conjunto de huevos cuando se forma la cápsula;

6) la estructura de la membrana externa y

7) disposición de los huevos.

Las cápsulas de los Planorbidae son ovaladas o rectangulares y planas. El exitus terminalis frecuentemente es adnate, raramente libre. Los huevos no poseen membrana externa. La cápsula se forman con torsión espiral, sin envolturas cuaternarias.

A lo largo del límite convexo de la cápsula corre la sutura operculata, una zona de menor resistencia que se extiende sobre la cápsula ya sea siguiendo el margen dentro de éste (Figs. 7 C y 7 D); esta sutura opercular, según Bondesen (1950), sería producida por la presión del pie durante la formación de la cápsula. Los huevos normalmente están dispuestos en una capa. Ellos tienen sólo la membrana interna que es sólida y firme. Por la rotura del surco opercular se abre la cápsula y los jóvenes emergen en poco tiempo (Bondesen, 1950).

Un ovum o huevo de los Biomphalaria, está formado por la cigota, rodeada por un fluido perivitelino albumen, encerrado todo en una membrana perivitelina o membrana interna. Una cierta cantidad de huevos son reunidos dentro de una sustancia gelatinosa y cubiertos por la pared de la cápsula ó membrana terciaria de tercer orden (Fig. 7 A). El conjunto es llamado cápsula de los huevos (Fig. 3 B).

Cuadro II: Número de huevos, sus dimensiones las de las cápsulas, en las tres especies. Media (varianza).

(en mm)		<i>B.peregrina</i> n = 38	<i>B.tenacophila</i> n = 25	<i>B.clabrata</i> n = 42
número de huevos		1 a 35	4 a 40	5 a 50
huevos	diámetro mayor	0,70 (0,25)	0,80 (0,28)	0,97 (0,31)
	diámetro menor	0,61 (0,27)	0,64 (0,19)	0,81 (0,27)
cápsula	largo	6,87 (2,34)	7,15 (2,39)	6,73 (2,99)
	ancho	4,12 (1,32)	4,33 (1,47)	5,29 (1,78)
	alto	0,82 (0,22)	0,88 (0,35)	1,05 (0,35)

2 - Puesta.

La puesta de la capsula de los huevos es llevada a cabo de una forma particular bajo condiciones especiales.

De acuerdo a nuestras observaciones, el animal, detenido en un lugar apropiado, comienza la puesta dejando salir de su gonoporo hembra, un cilindro con extremos romos, que lleva los huevos en una hilera helicoidal (cápsula no flexionada) (Fig. 3 A 1). El cilindro se desliza por sobre el pie, hasta el sustrato y por su extremo se fija a él (Fig. 3 A 2). El animal gira y con el pie modela la forma final de la cápsula, dándole un límite (Fig. 3 A 3). Los Biomphalaria tiene su orificio genital hembra, en su lado izquierdo, por ser un animal sinestrorso. Durante la puesta el animal gira a la derecha y el tubo gira en el sentido de las agujas del reloj curvándose en espiral (Fig. 3 A 4). El animal pasa sobre la cápsula y le da su forma definitiva, dentro de la misma, los huevos quedan dispuestos en zigzag (Fig. 3 A 5). La membrana de la cápsula se esclerotiza, observándose una mayor resistencia a ser perforada con una aguja. De acuerdo a la concentración de oxígeno disuelto en el agua, entre 45 y 75 minutos, queda esclerotizada la membrana capsular.

Experimentalmente, la puesta está condicionada por distintos factores ambientales:

a) luz: favorece la disminución de la intensidad luminica, es por ésto que los animales ponen en la oscuridad o por la noche:

b) temperatura: un descenso de la temperatura en un lapso muy corto, por ejemplo de 6 grados centígrados en 5 minutos, induce la puesta:

c) concentración de sustancias orgánicas: un aumento en la concentración de la materia orgánica, disminución al mismo tiempo de la concentración de oxígeno en el agua y del pH, favorecen la puesta.

Nuestras observaciones también indican que existe una selección del lugar para fijar las cápsulas:

1) hay una estrecha relación con la concentración del oxígeno disponible en el lugar. En acuarios sin aeración, donde el gradiente de disminución del oxígeno va disminuyendo hacia el fondo del recipiente, las cápsulas son puestas cerca de la superficie del agua. Con aeración, no existe preferencia de lugar y el animal pone las cápsulas sin preferencia de lugar, incluyendo el fondo.

2) El sustrato debe ser el adecuado, esto es, toda superficie orgánica, (hojas de lechuga que le sirve de alimento, conchas de animales vivos o muertos) o en la película de bacterias y algas (biocerma) formada sobre superficies de vidrio de los acuarios. Comprobamos también que superficies de cemento plástico de origen Epóxi, son excelentes sustratos, y por ello las utilizamos para nuestros experimentos.

III - Biología de las células nodrizas del sistema reproductor de Biomphalaria glabrata.

1 - Las células nodrizas (trofocitos) del ovotestis.

Las células nodrizas del ovotestis o trofocitos son células acompañantes de las gametas y que elaboran el alimento apropiado y necesario para las mismas.

Los espermatozoides se desarrollan sobre un trofocito con motilidad propia (trofocito móvil). El desarrollo de los ovocitos se cumple mediante una capa (folículo) de trofocitos (trofocitos foliculares) que recubre a la gameta hembra en crecimiento.

Los trofocitos móviles, observados con el MET, presentan sus núcleos con sustancia osmeófila periférica, dejando un centro claro en el cual se destaca el nucleólo. En algunos trofocitos se observan dos núcleos. En el citoplasma se visualizan muchas mitocondrias, distribuidas entre cisternas osmeófilas, gotas de lípidos y gránulos de glucógeno; aparatos de Golgi; retículo endoplasmático granular; lisosomas primarios, con un material finamente granulado, poco osmeófilo de hasta 0.9 μm de diámetro, situado en la vecindad del núcleo y lisosomas secundarios con gránulos gruesos osmeófilos. Estas células se encuentran unidas a las espermatogonias por uniones citoplasmáticas y desmosomas.

Durante las fases de la espermatogénesis se

2 - Los pigmentos vinculados al ovotestis.

Células pigmentadas.

No existe una definición de pigmento que satisfaga a la vez al bioquímico y al histólogo. Para el bioquímico, un pigmento es una sustancia coloreada, de naturaleza diversa, a menudo proteica, que confiere una coloración al tejido que la contiene. Para el histólogo los pigmentos son estructuras particulares, en general muy finas y a veces agrupadas formando acúmulos, que se encuentran en los tejidos al estado natural y/o patológico, en la célula o por fuera de ella (Ganter y Jollés, 1969 - 1970).

Los pigmentos presentes en este sistema, poseen una coloración natural que va desde el amarillo claro al pardo oscuro, casi negro, característica que comparten las melaninas y los cromolipoides, éstos últimos integrados por los pigmentos lipofucsínicos y los caroides. Otro carácter en común entre las melaninas y los cromolipoides, es la insolubilidad en los solventes orgánicos utilizados en las preparaciones histológicas, por lo que se conservan en los cortes a la parafina.

Las células pigmentadas se encuentran en el tejido conectivo del animal, en especial modo aquel que recubre al sistema reproductor y en aquellos que limitan a cavidades. La membrana conectiva fibrosa delgada con células pigmentadas que constituye la pared de los sacos de maduración

del ovotestis, es considerada por nosotros como integrante del sistema reproductor. En este tejido describimos las células con pigmento negro y otras con pigmento ocre, células que encontramos de igual manera en el conectivo general.

Definimos a las melaninas como pigmentos de tintes variados, que van del amarillo pálido al negro, conociéndose muchas variedades de composición química vecina, dotadas de propiedades comunes (Ganter y Jollés, 1969 - 1970). En cortes histológicos las melaninas se presentan en general bajo la forma de granulaciones de tamaño variable que van del límite de la visibilidad (2 / 10 μ m) hasta grupos de varios micrómetros. El aspecto ultraestructural de los gránulos de melanina en células de invertebrados no artrópodos fue precisado por Moretto, Sanchez & Vernet (1966) en Nemertea, siendo similar a los gránulos de melanina que presentan los vertebrados.

Desde el punto de vista químico, las melaninas son polímeros nitrogenados, cuyos monómeros de base es, muy probablemente, un indol sustituido, pero como la estructura puede ser irregular y las melaninas naturales están a menudo conjugadas con proteínas, una definición química precisa no es posible. Por otra parte, una determinación exacta de la composición elemental es muy difícil, porque la separación de las melaninas al estado nativo a partir de los pigmentos y las proteínas que las envuelven, es extremadamente delicada.

Algunos autores efectuaron ensayos

Cercano a éstos, son observados premelanosomas y melanosomas, poseyendo los maduros, entre 0,4 y 0,8 μm de diámetro. La membrana plasmática presenta pinocitosis.

Los métodos empleados para investigar las propiedades físicas y las histoquímicas de los pigmentos negro y ocre presentes en las células del tejido conectivo, determinan la presencia de melaninas (Cuadro III). Estas se caracterizan por su resistencia a los solventes orgánicos, su propiedad de decolorarse mediante ciertos oxidantes, su basofilia y su argirofilia; ser positivas a las reacciones de Schmorl y al método de Lillie con hierro ferroso; colorearse de igual manera con el método de Lillie con azul de Nilo, en preparados hidratados y deshidratados, y por sus resultados negativos en las pruebas para fluorescencia, para lípidos y en el método de Hueck.

Las diferencias observadas entre los dos tipos de células pigmentadas son:

a) en los distintos tiempos de decoloración, siendo el pigmento negro el más resistente;

b) en los resultados positivos obtenidos en las células con pigmento ocre, para los métodos del APS, APAS y APFS, que pueden deberse a la producción de aldehídos que algunas melaninas pueden generar por una oxidación de lípidos insaturados a los cuales están asociadas (Pearse, 1968 - 1972)

y

c) la demostración de precursores del pigmento

Cuadro III: Análisis histoquímico de las melaninas.

Metodos empleados	Células con pigmento ocre	Células con pigmento negro
En blanco, en cortes por congelación	ocre	negro
En blanco, en cortes a la parafina	ocre	negro
Decoloración por permanganato 0.1%	24 horas	24 horas
Decoloración por permanganato 0,25%	20 minutos	30 minutos
Decoloración por ácido peryódico	2 horas	3 horas
Decoloración por ácido perácetico	3 horas	3 a 4 horas
Decoloración por ácido crómico	5 horas	6 horas
Decoloración por ácido nítrico	1 hora	3 horas
Decoloración por peróxido de hidróg.	24 horas	24 horas
Decoloración por el método de Gomori	en minutos	en minutos
Decoloración por el método de Mayer	24 horas	24 horas
Prueba para fluorescencia	negativo (-)	negativo (-)
Método para lípidos (tem. ambiente)	ocre (-)	negro (-)
Método para lípidos (a 60 C°)	ocre (-)	negro (-)
Prueba de basofilia con tionina	azul (+)	negro azulado (+)
Reacción argentafín clásica	negro (+)	negro (+)
Reacción de Schmorl	azul (+)	azul negruzco(+)
Método de Paris	ocre (-)	negro (-)
Método de Lillie (hierro ferroso)	verde (+)	azul oscuro(++)
Método de Hueck	no aparece	no aparece

Cuadro III: Análisis histoquímico de las melaninas.

Metodos empleados	Células con pigmento ocre	Células con pigmento negro
Método de Lillie con azul de Nilo A (hidratado)	azul verdoso (+)	azul obscuro (+)
Método de Lillie con azul de Nilo A (deshidratado)	azul verdoso (+)	azul obscuro (+)
Reactivo de Schiff	ocre (-)	negro (-)
APS	púrpura (+)	negro (-)
APAS	púrpura (+)	negro (-)
APFS	púrpura (+)	negro (-)

3 - La "masa caótica"

En el fondo de cada una de los sacos de maduración del ovotestis de *Symphalaria olabrata*, así como en las otras especies estudiadas para referencia, se encuentra la "masa caótica" ya descrita en apartado I.

En cortes histológicos obtenidos ya sea por congelación, ya sea a la parafina y en blanco, la "masa caótica" se visualiza coloreada desde el amarillo brillante al amarillo parduzco.

Hemos definido a la "masa caótica" como formada por una matriz, con cuerpos basófilos y esferas amarillas. La localización de los cuerpos basófilos y de las esferas amarillas difieren: los primeros se encuentran generalmente, contra la pared del órgano, mientras que las segundas están situadas hacia la luz del saco de maduración. La matriz está formada por gránulos de distintos diámetros, término medio 7,5 μm . Los cuerpos basófilos consisten en acúmulos de gránulos, de 12,1 μm ; mientras que algunas esferas amarillas promedian 68,7 μm de diámetro. En su interior se observan puntuaciones granulares más oscuras de 11,3 μm .

Las lipofuscinas son pigmentos definidos casi exclusivamente por caracteres morfológicos e histoquímicos, que son esencialmente los siguientes:

- a) pigmentos granulares pardo amarillentos;

b) resistencia a los solventes utilizados durante las inclusiones en parafina;

c) no dan resultados positivos con el método de Perls;

d) con azul Nilo se colorean de azul y

e) con luz ultravioleta presentan una fluorescencia de amarilla a parda.

Las lipofuscinas pertenecen a un grupo heterogéneo de sustancias pigmentadas y representan productos de oxidación de precursores lipídicos o lipoproteínas, pero su carácter histoquímico presenta variaciones en función del origen, del lugar y del modo de formación del pigmento, así como también su grado de oxidación.

Los ceroides son cromolipoides que se definen por un conjunto de caracteres histoquímicos muy cercanos a aquellos que definen a las lipofuscinas, y con características particulares como ser:

a) forman granulaciones amarillentas con afinidad por los colorantes de las grasas;

b) resisten los solventes en las preparaciones a la parafina;

c) dan resultados negativos con el método de Perls;

d) con azul Nilo toman un color de azul a púrpura;

e) fluorescencia amarilla a pardo claro y

f) fuerte ácidosresistencia.

La matriz y los cuerpos basófilos se diferencian histoquímicamente, entre sí. Los cuerpos basófilos dan positivo con los procedimientos que detectan lipofuscinas: el método de Lillie con azul Nilo en preparaciones hidratadas, y el método de Gomori. Los pigmentos ceroides, se detectan en la matriz, mediante el método de Feyter para los lípidos ácidos. La reacción plasmal (método de Hayes) (Fig. 5 G) y el método de Ziehl - Neelsen (Fig. 5 D), los señalan, a éstos últimos, como sustancias derivadas de la oxidación de lípidos no saturados y con una alta ácidosresistencia.

La matriz de la "masa caótica" sometida a la luz fluorescente toma un color pardo dorado (pigmento ceroide) y los cuerpos basófilos, un color naranja (sustancia lipofuscínica), lo que confirma nuestros resultados histoquímicos.

Los métodos de Lison, APAS y APFS, revelan un mayor resultado positivo en los cuerpos basófilos que en la matriz, lo que interpretamos como una acentuada concentración de lípidos insaturados (fosfolípidos insaturados). La reacción positiva del APS demuestra el estado intermedio de oxidación de lípidos insaturados.

La basofilia aumenta con el grado de oxidación (pigmento ceroide --- (oxígeno) ---> lipofuscina), como nos indican los métodos empleados de la tionina y el azul de toluidina.

En general las esferas amarillas no reaccionaron con los métodos histoquímicos utilizados. En

ciertos casos se observó en el interior de algunas esferas amarillas. un material granular con reactividad similar a la matriz, lo que indicaría que esos gránulos estarían constituidos por pigmentos ceroides (Fig. 5 G).

Cuadro IV: Análisis histoquímico de los pigmentos cromolipoides.

Métodos empleados	Esferas amarillas	Cuerpos basófilos (lipo-fucina)	Matriz (pigmento ceroide)
En blanco, en cortes por congelación	amarillo claro	amarillo brillante	amarillo pardusco
En blanco, en cortes a la parafina	amarillo claro	amarillo brillante	amarillo pardusco
Decoloración por peróxido	amarillo(-)	amarillo(-)	amarillo(-)
Decoloración por ác. crómico	amarillo(-)	amarillo(-)	amarillo(-)
Decoloración por ác. peryódico	amarillo(-)	amarillo(-)	amarillo(-)
Prueba para fluorescencia	negativo(-)	naranja(+)	pardo dorado(+)
Mét. para lípidos (tem. amb.)	amarillo(-)	negro (+)	negro (+)
Mét. para lípidos (a 60 C°)	amarillo(-)	negro (+)	negro (+)
Mét. para lípidos (desenmasc.)	amarillo(-)	negro (+)	negro (+)
Basofilia: tionina	amarillo(-)	azul (++)	celeste (+)
Basofilia: azul de toluidina	amarillo(-)	azul (+)	amarillo(-)
Reacción argentafin clásica	marrón (-)	negro (++)	negro (+)
Método de Schmorl	amarillo(-)	azul (+)	celeste(+)
Método de Perls	amarillo(-)	amarillo(-)	amarillo(-)
Mét. de Lillie (hierro ferroso)	amarillo(-)	amarillo(-)	amarillo(-)
Método de Hueck	amarillo(-)	azul (++)	celeste(+)
Mét. Lillie azul de Nilo A (hidratado)	amarillo(-)	azul (+)	amarillo(-)
Mét. Lillie azul de Nilo A (deshidratado)	amarillo(-)	amarillo(-)	amarillo(-)
Método de Gomori	amarillo(-)	azul (+)	amarillo(-)
Reactivo de Schiff	amarillo(-)	rosado (+)	amarillo(-)

Cuadro IV: Análisis histoquímico de los pigmentos cromolipoides.

Métodos empleados	Esferas amarillas	Cuerpos basófilos (lipofucina)	Matriz (pigmento ceroide)
Método de Hayes	amarillo(-)	violáceo(+)	púrpura(++)
Método de Lison	amarillo(-)	púrpura(+)	rosado(+/-)
APS	amarillo(-)	púrpura claro (+/-)	púrpura(+)
APAS	amarillo(-)	púrpura(++)	púrpura(+)
APFS	amarillo(-)	púrpura(++)	púrpura(+)
<u>CAROTENOIDES</u>			
Líquido de Lugol	amarillo(-)	amarillo(-)	amarillo(-)
Solución de ácido sulfúrico	amarillo(-)	rojo tenue (+)	rojo tenue (+)
<u>ACIDORESISTENCIA</u>			
Método de Ziehl - Neelsen	amarillo(-)	amarillo(-)	violeta(-)
<u>LIPIDOS CON CARACTER ACIDO</u>			
Método de Lorrain - Smith	amarillo(-)	azul (+)	violáceo(+)
<u>LIPIDOS ACIDOS Y MUCOSUSTANCIAS ACIDAS</u>			
Método de Feyter	verdoso(-)	celeste(-)	violeta(+)

4 - Ciclo de los trofocitos.

El trofocito móvil con su carga de células sexuales macho, se desplaza por sobre la pared del saco de maduración recibiendo los nutrientes, desde el líquido hemocélico que pasa desde el otro lado de la pared. Las espermatogonias desprendidas del epitelio germinativo, se dividen en dos células, la basal, se transforma en trofocito móvil, mientras que las divisiones y transformaciones sucesivas de la otra superior, darán los espermatozoides. Cuando las espermatidas se transforman en espermatozoides, el citoplasma remanente pasa al trofocito. Una vez que se liberan los espermatozoides, el trofocito se autolisa, dejando en libertad sustancias que van a integrar la "masa caótica".

Los ovocitos previtelinos, por medio de un movimiento ameboidal, se desplazan, desde el epitelio germinativo hasta un lugar determinado de la pared del saco de maduración, junto a la "masa caótica". Allí, se detienen y rodeado por los trofocitos foliculares, da comienzo a su vitelogénesis. Cuando el ovocito maduro deja su folículo, los trofocitos que forman a éste, degeneran y pasan a aumentar la "masa caótica" del saco de maduración.

Los ensayos histoquímicos señalan que en los trofocitos, tanto móviles como foliculares, se encuentra gran cantidad de lípido. Por los métodos de Lison, APAS y

Cuadro V: Análisis histoquímico de los trofocitos.

Métodos empleados	trofocitos línea hembra	trofocitos línea macho
<u>MUCOSUSTANCIAS ACIDAS</u>		
Método de Feyter (deslipidizado)	violeta(+)	violeta(+)
Método de Hale	celeste(+)	azul (++)
Método de Steedman, var. Spicer	celeste(+)	celeste(+)
<u>PROTEINAS</u>		
Método de Hartig - Zacharias	celeste(+)	azul (++)
Método de Salazar	gris (+-)	negro (+)
Método de Deitch	amarillento (+-)	amarillo(+)

IV - Funcionamiento del tracto genital hembra en
Biomphalaria glabrata.

Formación de la cápsula de los huevos.

1 - Secreciones del tracto genital hembra.

Los ovocitos maduros son fecundados en el atrio o preatrio por los espermatozoides foráneos (entrecruzamiento) o en las vesículas seminales por los espermatozoides autóctonos (hermafroditismo). La cigota pasa por el ducto hermafrodita hasta el "carrefour", en donde es derivada desde la cámara macho hasta la cámara hembra, siendo envuelta por la secreción de la glándula del albumen.

El extremo distal de las células secretoras de la glándula del albumen, en Biomphalaria glabrata contiene glóbulos APS positivos, en donde el galactógeno está localizado (von Brand & Files, 1947; Correa, Dmytraczenko & Duarte, 1967). Además, se encontró glucógeno en su epitelio glandular, pero no así, en las cápsulas de los huevos, considerando a esta sustancia como una reserva material para el metabolismo de las células glandulares (McMahon, von Brand & Nolan, 1957).

En los pulmonados, el albumen es un fluido complejo conteniendo además de galactógeno, proteínas, glicoproteínas, algunos aminoácidos libres (Bayne, 1966) y

calcio (Morrill, 1963; Morrill, Norris & Smith, 1964; Bayne, 1966).

La cigota con su cubierta de albumen entra en el oviducto. Esta genera, según sus regiones, las sustancias que entraran en la formación de las envolturas de la cápsula de los huevos.

De acuerdo a Jong-Brink (1967) Duncan (1975), en los Basommatophora, el oviducto secreta fundamentalmente mucosustancias.

2 - Histoquímica del tracto genital hembra.

Las distintas secreciones encontradas por nosotros en las células secretoras del tracto hembra, diferencian distintos tipos celulares, según las regiones del tracto.

Región pre-otecal:

Las sustancias detectadas en el epitelio de esta región son mucosustancias ácidas, proteínas lipoproteínas (Cuadro VI).

En las células secretoras columnares o tipo celular A, de la primera porción de este tramo (Fig. 6 B), se encuentra una mucosustancia ácida sulfatada, notoria por su γ -metacromasia que resiste bajo pH, deshidratación concentración de nitrato de uranilo de 0,001N y proteínas con aminoácidos aromáticos (= tirosina), grupos tioéteres tioles. En el resto de la región, se encuentran los tipos celulares B y C (Fig. 6 D). El primer tipo celular es columnar y secreta una mucosustancia ácida carboxilada con β -metacromasia, que no resiste bajo pH, deshidratación y concentraciones de nitrato de uranilo de 0,001N. El tipo celular C es globoso y secreta lipoproteínas (Fig. 6 E).

Glándula cotelcal:

En esta glándula existe alta proporción de mucosustancias ácidas carboxiladas y baja cantidad de mucosustancias ácidas sulfatadas. Se encuentran proteínas, con baja reacción a la tirosina y a los puentes disulfuro (tioéteres). No se detectó lípidos ni lipoproteínas. (Cuadro VI).

El tipo celular **D**, de la glándula cotelcal, es columnar y se distribuye a lo largo del cuerpo principal del órgano, secretando mucosustancias ácidas sulfatadas. El tipo celular **E**, es ovoidal y se encuentra en la parte más dilatada de la glándula y en su extremo distal secreta una mucosustancia ácida carboxilada. El tercer tipo celular, es el **F**, columnar, con una secreción protéica con poca reactividad a los aminoácidos aromáticos y con grupos tioéteres sin grupos tioles.

Región post-cotelcal:

Esta región se distingue por sus dos epitelios el de la pared izquierda y el de la derecha.

El epitelio de la pared izquierda, está constituido por el tipo celular **G**, columnar, en el cual se detecta la presencia de mucosustancias neutras. En la porción basal de esas células se detectaron lípidos (Cuadro VI) (Fig. 6 I).

El epitelio de la pared derecha, esta formado, por dos tipos celulares el E y el F, pertenecientes a la glándula cotecal y que se prolongan en esta región post-cotecal. El tipo E, secreta mucosustancias ácidas y el tipo F, proteínas. El tipo celular F, de esta región posee una mayor proporción de aminoácidos con grupos tioles y tioéteres y sin aminoácidos aromáticos (Cuadro VI).

Vagina:

Las células secretoras que se presentan en este tramo, dan positiva la reacción para mucoides (esterificación sulfúrica - metacromasia).

En ninguna de las tres regiones del oviducto se encontraron niveles de calcio iónico, detectable con los métodos histoquímicos empleados (Cuadro VI).

En el Cuadro VII y en la Fig. 2, se comparan los distintos tipos celulares, de acuerdo a sus secreciones y su distribución.

Cuadro VI: Análisis histoquímico del oviducto.

Metodos empleados	región pre-ootecal	glándula ootecal	región post-ootecal
APAS	púrpura(++)	púrpura(+)	púrpura(++)
APFS	púrpura(+)	rosado (-)	púrpura(+)
<u>PROTEINAS</u>			
Método de Hartig - Zacharias	azul (++)	azul (+)	azul (++)
Método de Deitch	amarillo(+)	no toma(-)	amarillo(+)
Método de Morel y Sisley	rosa (++)	rosado (+)	no toma(-)
Mét. de Chèvremont y Frédéric	celeste(+)	no toma(-)	azul (++)
Método de la fucs. paraldehído con oxidación	púrpura(+)	celeste(-)	púrpura(+)
Método de Adams y Sloper	azul (+)	celeste(+)	azul (+)
Reducción + Chèvremont y Frédéric	azul (++)	celeste(+)	azul (++)
Bloqueo (sublimado)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)
Bloqueo (iodo)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)
Bloqueo + reducc. + Chèvremont y Frédéric	azul (+++)	celeste(+)	azul (+++)
APYAT	azul (++)	azul (+)	azul (++)
APAAT	azul (++)	celeste(-)	celeste(-)
APFAT	azul (++)	celeste(-)	azul (+)
<u>AMILOIDE</u>			
Método de Lebrum	celeste(-)	celeste(-)	rosado(+)
Método de Bancroft	verdoso(-)	verdoso(-)	rosado(+)
Método de Bennhold: variante de Highman	no toma(-)	no toma(-)	rosado(+)
variante de Puchtler	no toma(-)	no toma(-)	rojo (+)

Cuadro VI: Análisis histoquímico del oviducto.

Metodos empleados	región pre-ootecal	glándula ootecal	región post-ootecal
Birrefringencia posterior al tratamiento con rojo Congo	negativa	negativa	negativa
<u>CALCIO</u>			
Método de von Kossà	gris (-)	gris (-)	gris (-)
Método con negro eriocromo T	azul (-)	azul (-)	azul (-)
Método de Dahl y McGee-Russel	no toma(-)	no toma(-)	rojo (+)
Descalcificado + Dahl y McGee-Russel	no toma(-)	no toma(-)	rojo (+)

3 - Naturaleza y origen de las envolturas de la cápsula.

1) Fluido perivitelino o albumen:

El galactógeno se encuentra en la secreción de la glándula del albumen y por consiguiente en el albumen que rodea a los huevos fertilizados. (Duncan, 1975).

En nuestro caso, presenta β -metacromasia, es APS positivo y se tiñe con el carmín de Best, lo que confirma la regla general.

Las reacciones para lípidos y lipoproteínas nos mostraron que ellos existen en baja cantidad en el albumen. También demostramos la presencia de bajas concentraciones de mucosustancias ácidas y pocas proteínas ácidas, pobres en aminoácidos aromáticos, grupos tióles y tioéteres (Cuadro VIII).

2) Membrana interna o perivitelina.

Se tiñe ligeramente con la hematoxilina y es APS positiva. No permite el pasaje de los colorantes, sólo en el caso de estar dañada.

Está formada por proteínas que presentan aminoácidos aromáticos y uniones de tipo disulfuro, y mucosustancias ácidas sulfatadas. No se encuentran ni lípidos ni lipoproteínas (Cuadro VIII).

correspondería a uno de los constituyentes morfológicos característicos de las variedades de amiloidiasis humanas.

En la sustancia gelatinosa detectamos una pequeña cantidad de una lipoproteína y una mucosustancia ácida carboxilada, algo sulfatada. También se puso en evidencia una proteína que carece de aminoácidos aromáticos y posee grupos tioles (Cuadro VIII).

La sustancia gelatinosa se forma en la zona posterior de la región pre-ootecal, en la glándula ootecal en la pared derecha de la región post-ootecal.

4) Pared capsular :

Su grosor no es uniforme: la región de contacto con el sustrato es delgada de 1,2 μm a 1,5 μm ; la otra, va aumentando de grosor hacia su parte superior, en donde llega a tener de 3,2 μm a 4,8 μm .

La imagen al MET son las que muestran las Figs. 9 C y 9 D.

La pared capsular tiene una reactividad fuertemente APS positiva. Los restos de cápsulas ya eclosionadas y viejas son detectadas por la fuerte reactividad APS positiva de la pared, lo que sirve como indicador de la localización de restos de puestas difícilmente reconocibles.

La pared capsular está formada por una mucosustancia neutra y una proteína, con aminoácidos con grupos tioéteres, sin aromáticos (tirosina), no encontrándose lípidos ni lipoproteínas.

Cuadro VIII: Análisis histoquímico de las envolturas de los huevos.

Metodos empleados	Fluido peri-vitelino	membrana peri-vitelina	sustancia gelatinosa	membrana capsular
Basofilia: azul de toluidina	celeste (+-)	azul (++)	celeste (+-)	azul (++)
Prueba para lípidos (tem. ambiente)	negruzco (+-)	gris (-)	gris (-)	gris (-)
Prueba para lípidos (a 60 °C)	negruzco (+-)	gris (-)	gris (-)	gris (-)
Prueba para lípidos desenmascaramiento	negro (+)	gris (-)	negruzco (+-)	gris (-)
<u>LIPIDOS</u>				
Método de Feyter	rosa (+-)	rosa (+-)	violeta(+)	celeste(-)
Método de Feyter (desenmasc.)	rosa (+-)	rosa (+-)	violeta(+)	celeste(-)
<u>MUCOSUST. ACIDAS</u>				
Método de Feyter (deslipidizado)	rosa (+-)	rosa (+-)	violeta(+)	celeste(-)
Método de Salazar	gris (+-)	gris (+-)	negro (++)	gris (-)
Método de Hale	amarillo(-)	amarillo(-)	celeste(+)	amarillo(-)
Método de Halmi y Davies	rosado (+-)	violáceo (+)	violáceo (+)	rosado (+-)
Método de Steedman: var. de Mowry	celeste (-)	azul claro (+)	azul (++)	celeste (-)
Método de Steedman: var. de Spicer	celeste (-)	celeste (-)	azul (+)	celeste (-)
Metacromacia pH 4,4 azul de toluidina mont. med. acuoso	violáceo (+)	violeta (++)	violeta (++)	violeta (++)
Metacromacia pH 4,4 azul de toluidina mont. balsamo	celeste (-)	azul (-)	violáceo (+)	azul (-)
Metilación - metac.	celeste(-)	celeste(-)	celeste(-)	celeste(-)

Cuadro VIII: Análisis histoquímico de las envolturas de los huevos.

Metodos empleados	fluido peri-vitelino	membrana peri-vitelina	sustancia gelatinosa	membrana capsular
Met. - saponificación - metac.	celeste (-)	celeste (-)	violáceo (+)	celeste (-)
Metacromacia pH 3,4 azul de toluidina	violáceo (+)	azul (-)	violáceo (+)	azul (-)
Metacromacia, azul de toluidina, pH 3,4 + nitrato de uranilo, en medio acuoso	celeste(-)	azul (-)	púrpura(+)	azul(-)
Reactivo de Schiff	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)
APS	violáceo(+)	violáceo(+)	violáceo(+)	púrpura(++)
APAS	violáceo(+)	púrpura(++)	violáceo(+)	púrpura(++)
APFS	no toma(-)	violáceo(+)	violáceo(+)	púrpura(++)
PROTEINAS				
Método de Hartig - Zacharias	celeste(+)	azul (++)	celeste(+)	azul (+++)
Método de Deitch	amarillo claro (-)	amarillo(+)	no toma(-)	amarillo(-)
Método de Morel y Sisley	rosado tenue(+)	rosa(+++)	rosado (+)	no toma(-)
Mét. de Chevremont y Frederic	celeste(+)	azul (+)	no toma(-)	azul (+)
Método de Gomori	no toma(-)	violeta(++)	violáceo(+)	violeta(++)
Método de Adams - Sloper	celeste(+)	celeste(+)	no toma(-)	azul (+)
Reducción - Chevremont y Frederic	celeste(+)	celeste(+)	celeste(+)	celeste(+)
Bloqueo (sublimado)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)

Cuadro VIII: Análisis histoquímico de las envolturas de los huevos.

Metodos empleados	fluido peri-vitelino	membrana peri-vitelina	sustancia gelatinosa	membrana capsular
Bloqueo (iodo)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)
Bloqueo - reducción - Chevrement y Frederic	celeste (+-)	azul (+)	celeste (+-)	azul (+)
APAT	violáceo(+)	violeta(++)	violáceo(+)	violeta(++)
APAAT	violáceo(+)	violeta(++)	violáceo(+)	violeta(++)
APFAT	violáceo(+)	violeta(++)	violáceo(+)	violeta(++)
<u>AMILOIDE</u>				
Método de Landrum	violáceo(+)	celeste(-)	violáceo(+)	celeste(-)
Método de Bancroft	violáceo(+)	verdoso(-)	violáceo(+)	verdoso(-)
Método de Highman	naranja(-)	naranja(-)	rojo (+)	anaranjado (-)
Método de Puchtler	anaranjado (-)	anaranjado (-)	rojo (++)	rosado (+) (en parte)
Birrefringencia posterior al trat. con rojo Congo	negativo	negativo	verde claro (+)	negativo
<u>QUITINA</u>				
Método de Schulze (zinc - iodado)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)	violeta(+)
Método de Schulze (Lugol - sulfúrico)	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)	marrón(+)
<u>CALCIO</u>				
Método de von Kossà	gris (-)	gris (-)	gris (-)	gris (-)
Método de negro eriocromo T	azul (-)	no toma(-)	no toma(-)	azul (-)
Método de Dahl y McGee-Russel	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)	rosado(+)

Cuadro VIII: Análisis histoquímico de las envolturas de los huevos.

Metodos empleados	fluido peri-vitelino	membrana peri-vitelina	sustancia gelatinosa	membrana capsular
Descalcific. + Dahl y McGee-Russel	no toma(-)	no toma(-)	no toma(-)	rosado(+)

DISCUSION Y CONCLUSIONES :

I - Sistema reproductor de Biomphalaria :

La morfología del sistema reproductor de los Basommatophora dulciacuícolas (Hygrophila), a excepción de los Acroloxidae, está caracterizada por la completa separación de los ductos hembra y macho desde el "carrefour". En el ducto macho, los vasa efferens llevan glándulas prostáticas, pero la próstata de los Lymnaeidae, tiene una histología diferente (Hubendick, 1947; Duncan, 1960b). Duncan (1960a; 1960b) subdivide al oviducto del ducto hembra en cuatro regiones, probablemente asociadas con la producción de las cápsulas de los huevos. De acuerdo con nuestros resultados histológicos e histoquímicos, nosotros preferimos dividir al oviducto de la familia Planorbidae en tres regiones: la pre-cotecal, la cotecal y la post-cotecal.

La organografía genital de los Biomphalaria es homogénea, presentando diferencias de tamaño relativas a cada especie. La cápsula de los huevos son semejantes y la de Biomphalaria glabrata se caracteriza por poseer aproximadamente el doble en cantidad de huevos, que los que presenta B. peregrina y B. tenacohila.

Los planórbidos se destacan de las otras familias de Hygrophila, en poseer un "saco de fertilización"

(Duncan, 1975), característica que se cumple en Biomphalaria. El "saco de fertilización" es considerado como una dilatación distal del ducto hermafrodita (Hyton Scott, 1957) o del ducto principal de la glándula del albumen (Pan, 1958). Sin embargo nosotros (Moretto & Nahabedian, 1987) comprobamos que su estructura histológica lo hace independiente de esos órganos. El epitelio ciliado - glandular de la cámara hembra y el ciliado de la cámara macho, indican que esas estructuras pertenecerían a la vía hembra y a la vía macho respectivamente. Una superposición morfológica desfigura esta separación que se pone de manifiesto cuando se interpreta el mecanismo de selección de los productos sexuales (Moretto & Nahabedian, 1987). Los estudios realizados por Paraense (1976) en Biomphalaria glabrata, utilizando marcadores radioactivos, sugerirían que la fecundación se lleva a cabo en el ovotestis a medida que se liberan los ovocitos maduros de sus folículos. Nosotros determinamos que el sitio de la fecundación es el atrio del ovotestis, puesto que en esa parte del órgano observamos en animales post-cópula (de 12, 24 y 48 horas), espermatozoides foráneos asociados a las esferas amarillas y otros rodeando a los óvulos. Los espermatozoides autóctonos se diferencian de los foráneos por presentarse en haces que se trasladarían hacia las vesículas seminales.

En el epitelio de las vesículas seminales, Jong-Brink (1969), describe un ciclo celular, en el cual, este epitelio fagocita espermatozoides. El mismo autor encuentra en este epitelio otras células, que él llama "secretoras", en

forma de bulbo hacia el lumen, especialmente en las cercanías del "carrefour" y lo vincula con un proceso de secreción apocrina. Nuestros estudios indican que este tipo epitelial está relacionado con la dilatación de las vesículas seminales, especialmente aquellas cercanas al "carrefour", que son las que poseen menor contenido de espermatozoides. Este tipo de epitelio se ha encontrado en otros invertebrados el llamado epitelio extensible de Sanchez & Moretto, (1988). Por consiguiente la presunta secreción y la naturaleza glandular de ese epitelio sería una mera interpretación de Jong-Brink (1969).

El sistema hembra produce las envolturas externas del huevo y permite la salida de la cápsula de los huevos al exterior. Moretto & Nahabedian (1987) explican el desplazamiento de los huevos con sus envolturas hacia el gonoporo. El pasaje es producido por: 1) la musculatura y ciliación del "saco de fertilización" o cámara hembra; 2) la ciliación y musculatura de la región pre-otecal; 3) la musculatura y el surco ciliado de la región otecal; 4) la musculatura y los dos surcos ciliados de la región post-otecal y 5) la musculatura y ciliación de la parte diferenciada en vagina.

La sutura opercular de la cápsula de los huevos se forma en el surco ciliado del oviducto, que es acompañado por la carena muscular.

representan verosímilmente, el origen de células nutricias o trofocitos.

Según Brisson & Regondaud (1977), los trofocitos presentan un núcleo cuneiforme con numerosas áreas densas de cromatina; tienen importantes reservas glicogénicas (partículas α) y gotitas lipídicas en el citoplasma. Estas células envían láminas citoplasmáticas que se insinúan entre las gruesas células centrales. Esto es, el epitelio germinativo, desde su esbozo embrionario está constituido por gametogonias y trofocitos. Estos últimos, actuarían como células nutricias para la maduración de las gametas hembra y macho. El alimento tomado del fluido hemocélico, a través de la pared del ovotestis, es elaborado por los trofocitos y cedidos a las gametas en maduración.

De acuerdo con nuestras observaciones, los trofocitos son células de gran actividad, durante todo el ciclo de maduración de las gametas y presentan abundantes lisosomas primarios, así como una gran cantidad de lisosomas secundarios y de "figuras mielínicas". Dentro de estas últimas se producen las oxidaciones que terminan formando los gránulos de lipofucsina. Un ejemplo similar se da en las células de alto rendimiento (hepatocitos, neuronas) que en sus citoplasmas muestran gránulos de lipofucsina. Las lipofuscinas son entonces, el exponente de la actividad y la vejez de las células.

Todos los lípidos en su primer estadio de oxidación reaccionan como los pigmentos ceroides (Pearse, 1968

- 1972). La oxidación final produce las lipofuscinas.

Según Lüsüs (1961, 1962), Arion ater rufus (Stilomatophora), se encuentran células de pigmento oscuro en los tejidos conectivos de la túnica, alrededor y entre los acinos de la glándula hermafrodita. Este autor por métodos histoquímicos concluye, que no se trata de melaninas, sino de sustancias lipofuscínicas, sugiriendo que el pigmento es un producto de excreción. En el conectivo de Biomphalaria (Basomatophora), a los pigmentos con esa localización, nosotros los identificamos como melaninas, mientras que los restos de las oxidaciones lipídicas las encontramos dentro de los "acinos" (sacos de maduración) y son productos de excreción final producidos en el ciclo de los trofocitos.

La necrosis de los trofocitos libera pigmentos ceroides, lipofuscinas y las esferas amarillas. A las proteínas ácidas, que constituyen las esferas amarillas, pueden considerarse como un residuo proteico. Se tratarían de globulinas o albuminas. Como los espermatozoides foráneos según Vianey-Liaud, Nessi, Lancaster & Dupouy (1989), se estacionarían durante un tiempo determinado en el ovotestis, antes de fecundar a los ovocitos maduros, nosotros proponemos una función de las esferas amarillas, esto es que ellas entrarían nuevamente en la fisiología del sistema reproductor como acondicionadores de los espermatozoides foráneos, en espera de la fecundación.

Los pigmentos ceroides y las lipofuscinas encontradas en Biomphalaria glabrata, tienen el caracter de excreta, acumulándose en el fondo del divertículo. Nuestras observaciones señalan que cuanto más viejo es el animal, mayor es la cantidad de "masa caótica", acumulada. La "masa caótica" no entra en la formación de la cápsula de los huevos y se liberaría con la muerte del animal.

Los ensayos de detección de cromolípidos y las figuras que nos presenta el MET, indican la existencia de productos de la oxidación progresiva de lípidos en la evolución final de los trofocitos.

III - Fisiología secretora del oviducto:

Los huevos al pasar por el oviducto son envueltos por secreciones de los distintos tramos del mismo, las que originan capas definidas, que constituyen la cápsula.

En Lymnaea stagnalis, las grandes células glandulares de la región pre-cotecal del oviducto, secretan mucopolisacáridos ácidos, mientras que las pequeñas producen mucopolisacáridos sulfatados y dos zonas son distinguibles en la glándula cotecal, de acuerdo a las propiedades de los mucopolisacáridos que ellas producen (Fantin & Vigo, 1968).

Rangarao (1963a, 1963b) señala que las secreciones características de la parte hembra del espermoviducto de Nanina sp., son mucopolisacáridos ácidos, mientras que en Philomycus sp. se detectaron mucopolisacáridos ácidos y neutros (Kugler, 1965).

Smith (1965) describe, en animales maduros, la estructura del tracto reproductivo de Arion sp., a los efectos de tener una base morfológica para la investigación histoquímica. Las secreciones del tracto hembra, en estos animales son complejas y parecen ser polisacáridos fuertemente ácidos, polifenóles, fenilaminas, detectándose además, calcio. Estas sustancias también son detectadas en la membrana interna de la cápsula del huevo: su capa externa es muy calcificada. El calcio está asociado con una capa de lípidos caso que no se

cápsula de los huevos de esta especie.

De acuerdo a la naturaleza histoquímica de las secreciones producidas a lo largo de los epitelios del tracto hembra, pudimos distinguir ocho tipos celulares secretoras, que lo denominamos: A, B, C, D, E, F, G y H.

Jong-Bring (1969), en Biomphalaria glabrata y utilizando las técnicas de AB - AY, sin oxidación (Ravetto, 1964) y con oxidación (Peute & van de Kamer, 1967), encontró nueve tipos de células secretoras, de las cuales la 4 y la 7 serían semejantes histoquímicamente y ultraestructuralmente. Nuestro tipo C, no tiene correspondencia alguna con los tipos de Jong-Bring (1969). El tipo C, secreta una lipoproteína. El tipo F, podría corresponder al tipo 4 y 7 de Jong-Brink (1969), puesto que en, sus secreciones, dominan los grupos ácidos no sulfatados.

Las sustancias amiloides se acumulan como depósitos intercelulares en el hombre y en los animales, determinando patologías, ya desde hace mucho tiempo reconocidas en general como "enfermedades amiloides". La sustancia amiloide se presenta como depósitos lisos, brillantes, cerosos de aspecto "atocinado", firmes más bien que duros, pegajosos de una manera particular al cuchillo que corta al órgano que las contienen.

En cortes histológicos la sustancia amiloide se presenta como un material homogéneo, insoluble en agua, alcohol, eter, ácidos diluidos, tomando fácilmente los

colorantes ácidos (eosina, azul de anilina, verde luz). Cuando los depósitos son abundantes, a menudo, tienen un aspecto estriado en el sentido del ataque del cuchillo o al corte con la navaja, debido a una cierta rigidez de la sustancia.

Su aspecto al microscopio electrónico es la de un conjunto de finas fibrillas dispersas, entrecruzadas o agrupadas en haces. A estas fibrillas se unen frecuentemente finas partículas granulares (Cohen & Calkins, 1959; Blader, Nylen & Glenner, 1966; Hashimoto & Yoong Onn, 1971).

La constitución química y la configuración molecular de la sustancia amiloide varían según el origen de los depósitos y la edad del organismo. Ellas están constituidas por: 1) un elemento constante que es una glicoproteína fibrosa, conteniendo grupos aminos esencialmente sulfatados; 2) un cierto número de otras sustancias y en particular una proteína sérica, adsorbida sobre el elemento fibrilar. Esta proteína sérica con propiedad distinta, según los depósitos, parece ser el elemento variable que determina lo que se engloba bajo el término genérico de "amiloide" y que da cuenta del comportamiento distinto en los estudios clínicos, histológicos e histoquímicos de las diferentes variedades de los depósitos amiloides. Por otra parte, la sustancia del elemento glicoproteico fibrilar, debida cuenta del aspecto ultraestructural constante de todas las variedades de amiloide, aspecto que representa actualmente el único criterio diagnóstico verdaderamente específico de los amiloides. Esta estructura fibrilar característica explicaría

un número de propiedades físicas y químicas de esta sustancia.

La materia amiloide puede ser considerada como un complejo proteína - glicoproteína muy hidrófila. Esta hidrofilia condiciona muchas propiedades físicas del amiloide.

Bioquímicamente, de acuerdo con Lillie (1965) y Pearse (1968-1972), la sustancia amiloide es un complejo de mucopolisacáridos ácidos del tipo del ácido condroitin - sulfúrico y prótidos.

La coloración electiva del rojo Congo, por la sustancia amiloide, ha sido frecuentemente utilizada en medicina clínica para reconocer la enfermedad amiloidea (Glenner, 1980). Sin embargo, esta coloración no es específica. El rojo Congo se fija también sobre fibras elásticas, sobre los haces de colágenos densos y bajo ciertas condiciones, sobre ciertas células queratinizadas y granulaciones de células eosinófilas.

Las reacciones histoquímicas de la sustancia amiloide más interesante en la práctica son aquellas que conciernen a la fracción glucídica, esto es la reacción APS, la reacción de los glúcidos con grupos ácidos, y la metacromasia. Las diferencias e intensidades del APS según la variedad de amiloides sugiere una diferencia en la composición química de estas sustancias.

Los colorantes metacromáticos (colorantes del tipo violeta de metilo) dan una metacromasia franca, en las condiciones habituales de la técnica.

Respecto a la reacción de la fracción de

la proteína, los datos son contradictorios, si bien las reacciones histoquímicas "de grupo" de las proteínas o reacciones específicas de los ácidos aminados, confirman la presencia de la fracción proteica de la sustancia amiloide.

En cuanto a las observaciones histoquímicas sobre el contenido en lípidos de la sustancia amiloide son muy fragmentarias, pero en su conjunto, se concluye en la ausencia de lípidos figurados. Algunos autores describen lípidos, pero estos son inconstantemente encontrados y deben ser considerados como muy contingentes y no pertenecen a la sustancia amiloide propiamente dicha, es decir al elemento fibrilar observado al MET (Ganter & Jolles, 1969-1972).

La comparación con una reacción tipo para la determinación de la amiloidiasis humanas, así como nuestros ensayos y la ultraestructura observada, nos hace considerar que la sustancia gelatinosa, está formada fundamentalmente por una sustancia de tipo amiloide, cuyas microfibrillas están dispuestas en capas entrelazadas, en donde la orientación de las microfibrillas en cada capa es constante, pero varía de capa en capa. Esta estructuración determina un tramado que actúa como soporte mecánico de los huevos, dentro de la cápsula. Por otra parte, las propiedades de la sustancia amiloide (alta higroscopía), favorece al balance hídrico, intercambio de solutos y mantiene la temperatura constante.

El epitelio de la pared izquierda de la región post-ootecal, formada por células del tipo G, secreta una mucosustancia neutra. Las características de la pared

capsular nos indica que se formaría en esa región del oviducto.

La pared capsular presenta reactividad APS positiva y dá positivas las reacciones de Schulze, utilizadas para la determinación de quitinas.

La reactividad de la quitina ha sido controvertida. Es probable que el estado de maduración de las quitinas juegen un papel importante. Las quitinas jóvenes, "blandas", parecen ser más fácilmente APS positivo que aquellas tanizadas y "duras". La estructura de la cadena glicosídica de la quitina, sin duda, es diferente de un caso a otro. Jeanloz & Forchielli (1960) indican que sólo los grupos terminales de la quitina reaccionan con el ácido peracético: es entonces posible que las únicas quitinas reactivas, sean sustancias constituidas por cadenas cortas o que posean una estructura ramificada.

Algunos autores suponen que la quitina no es APS positiva (Ganter & Jolles, 1969-1970) y que los responsables son los grupos fenólicos. En nuestro caso no detectamos aminoácidos aromáticos con grupos fenólicos (tirosina).

Si bien la pared de la cápsula mostró reactividad positiva con las técnicas de Schulze, éstas no son específicas para la quitina (Pearse, 1968-1972).

La presencia de quitina en estructuras protectoras es señalada en otros invertebrados no artrópodos,

tales como en la cápsula de los huevos de Brachionus leydigii Cohn y otros rotíferos (Depoortere & Magis, 1967), como así, en los quistes de Ciliata (Bussers & Jeuniaux, 1974; Bussers, 1976).

El aspecto ultraestructural de la membrana capsular lo muestran las Figs. 9 C y 9 D.

Las imágenes electrónicas de la pared de la cápsula en Biomphalaria glabrata, vagamente recuerdan a lo observado con el MET, a bajos aumentos y en secciones oblicuas de la capa interna de la procutícula de la cutícula de Acanthocyclops viridis (Jurine), un crustáceo copépodo (Bouligand, 1965).

La presunta naturaleza quitinosa de la pared de la cápsula, podría ser elucidada, utilizando la difracción de rayos X. Sería además interesante aplicar el método del complejo WGA - Oro, con el cual se puede diferenciar una sustancia quitinosa de otra formada por una glicoproteína con N-acetilglucosamina (Pont Lezica & Quesada-Allué, 1990).

Bibliografía

- ABDEL-MALEK, E. T., 1954. Morphological studies on the family Planorbidae (Mollusca: Pulmonata) II. The genital organs of Biomphalaria boissyi (subfamily Planorbidae, H. A. Pilsbry, 1934). Trans. Amer. Micros. Soc., 73:285-296.
- ALAPHILLIPE, F., 1955. Altération des spermatozoides dans la poche copulatrice chez Planorbarius corneus (L.). C. R. Acad. Sc., 241:1225-1227.
- ALAPHILLIPE, F., 1959. Contribution à l'étude anatomique et histologique des voies génitales de Planorbis (Planorbarius) corneus L. (Gastéropode Pulmoné). Bull. Biol., 93:206-287.
- ANCEL, P., 1902. Histogénèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix comatia. Arch. Bio., 19:389-452.
- ARCHIE, V. E., 1941. The histology and developmental history of the ovotestis of Limnaea stagnalis lillianae. Tesis Univ. Wisconsin.
- AUBRY, R., 1954a. La structure de l'acinus et la lignée femelle dans la glande hermaphrodite de Limnaea stagnalis L. adulte. C. r. Séanc. Soc. Biol., 148:1498-1500.
- AUBRY, R., 1954b. Les éléments nourriciers dans la glande hermaphrodite de Limnaea stagnalis adulte. C. R. Soc. Biol., 148:1626-1629.
- AUBRY, R., 1956. La structure du canal hermaphrodite chez Limnaea stagnalis adulte. C. R. Soc. Biol., 150:1786-1789.
- AUBRY, R., 1961. Etude de l'hermaphrodisme et de l'action pharmacodynamique des hormones de vertébrés chez les gastéropodes pulmonés. Archs. Anat. microsc. Morph. Exp. (suppl.), 50(4):521-602.
- BAECKER, R., 1932. Die Mikromorphologie von Helix comatia und einigen anderen Stylommatophoren. Ztschr. Ges. Anat. Abt. III, Ergeb. Anat. und Entw., 29:449-585.

- BAKER, F. C., 1954. **The moluscan family Planorbidae.** Univ. Illinois Press, Urbana, Illinois, 530 pp.
- BARTH, R. & G. JANSEN, 1959. Contribuições ao estudo da gametogênese dos Planorbídeos. 12 parte: Célula nutridora e sua função. **An. Acad. Brasil. Ci.**, 31:429-445.
- BARTH, R. & G. JANSEN, 1960. Ueber den Begriff "Kinoplasma" in der Spermiogenese von Australorbis glabratus livaceus (Mollusca, Pulmonata, Planorbidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 58:209-226.
- BARTH, R. & G. JANSEN, 1961. Ueber die Formveraenderungen der Golgi-Apparates waehrend der Spermiogenese von Australorbis glabratus olivaceus. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 59:83-114.
- BARTH, R. & G. JANSEN, 1962. Beobachtungen ueber die Entwicklung und Ernaeherung der Eizellen von Australorbis glabratus olivaceus (Gastropoda, Pulmonata, Planorbidae). **Ann. Acad. Brasil. Cienc.**, 34:381-389.
- BAYNE, C. J., 1966. Observations on the composition of the layers of the egg of Agriolimax reticulatus, the grey field slug (Pulmonata, Stylommatophora). **Comp. Biochem. Physiol.**, 19:317-338.
- BAYNE, C. J., 1967. A comparative study of the desiccation rates of some gastropod eggs. **Comp. Biochem. Physiol.**, 23:761-773.
- BAYNE, C. J., 1968. Histochemical studies on the egg capsules of eight gastropod molluscs. **Proc. malac. Soc. Lond.**, 38:199-212.
- BLADEN, H. A.; M. U. NYLEN & G. G. GLENNER, 1966. The ultrastructure of human amyloid as revealed by the negative staining technique. **J. Ultrastruct. Res.**, 14:449-459.
- B&HM, A. & A. OPPEL, 1907. **Manuel de technique microscopique.** Quatrième édition française, Vigot Frères, Paris, 498 pp.
- BOLLES LEE, A. & F. HENNEGUY, 1887. **Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique.** Octave Doin, Paris, 488 pp.

- BONDESEN, P., 1950. A comparative morphological - biological analysis of the egg capsules of freshwater pulmonates gastropods. *Hygrophila, Basommatophora, Pulmonata. Nat. Jutland.* 3:1-208.
- BOULIGAND, Y., 1965. Sur une architecture torsadée répandue dans de nombreuses cuticules d'Arthropodes. *C. R. Séances Acad. Sc., Paris*, 261:4570-4574.
- BRETSCHNEIDER, L. H. & C. P. RAVEN, 1951. Structural and topochemical changes in the egg cells of Limnaea stagnalis L. during oogenesis. *Archs. Néerl. Zool.*, 10:1-31.
- BRISSEON, MM. P., 1982. Etude radioautographique des éléments aminergiques de la région du carrefour genital chez un gastéropode. *Malacologia*, 22(1-2):151-157.
- BRISSEON, MM. P. & C. BESSE, 1975. Etude ultrastructurale de l'ébauche gonadique chez l'embryon de Limnaea stagnalis L. (Gastéropode Pulmoné Basommatophore). *Bull. Soc. Zool. France*, 100(3):345-349.
- BRISSEON, MM. P. & J. P. COLLIN, 1977. Systèmes aminergiques des Gastéropodes pulmonés. I. Etude en microscopie de fluorescence et électronique des cellules aminergiques du canal de la glande à albumine chez Bulinus truncatus. Audouin. *Biol. Cellulaire*, 29:159-166.
- BRISSEON, MM. P. & J. P. COLLIN, 1980. Systèmes aminergiques des Gastéropodes pulmonés. IV. Paraneurones et innervation catécholaminergique de la région du carrefour des voies génitales: étude radioautographique. *Biol. Cellulaire*, 38:211-220.
- BRISSEON, MM. P. & J. REGONDAUD, 1971. Observations relatives à l'origine dualista de l'appareil genital chez quelques Gastéropodes Pulmonés Basommatophores. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 273:2339-2341.
- BRISSEON, MM. P.; J. REGONDAUD & J. P. COLLIN, 1977. Systèmes aminergiques des Gastéropodes pulmonés. II. Mise en évidence au carrefour des voies génitales par la méthode FIF. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 17:1077-1086.

- BUFFLOCK, J. & J. HARLEY-MASON, 1951. Melanin and its precursors. II. Model experiments on the reactions between quinones and indoles, and consideration of a possible structure for the melanin polymer. *J. Chem. Soc. [London]*, 1951(3):703-712.
- BUSSERS, J. C., 1976. Structure et composition du kiste de résistance de 4 Protozoaires Ciliés. *Protistologica*, 12:87-100.
- BUSSERS, J. C. & Ch. JEUNIAUX, 1974. Recherche de la chitine dans les productions métaplasmatiques de quelques Ciliés. *Protistologica*, 10:43-46.
- CARRIKER, M. R. & N. M. BILSTAD, 1946. Histology of the alimentary system of the snail Limnaea stagnalis apud Say. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 65:250-275.
- CAVALIE, M. M. & L. BEYLOT, 1902. Sur la glande albuminipare de l'escargot. *C. R. Soc. Biol. Paris*, 54:297-298.
- COHEN, A. S. & E. CALKINS, 1959. Electron microscopic observation on a fibrous component in amyloid of diverse origins. *Nature*, 183:1202-1203.
- CORREA, J. B. C.; A. DMYTRACZENKO & J. H. DUARTE, 1967. Structure of a galactan found in the albumen gland of Biomphalaria glabrata. *Carbohydrate Res.*, 3(4):445-452.
- CROMARTIE, R. I. T. & J. HARLEY-MASON, 1957. Melanin and its precursors. 8. The oxidation of methylated 5,6-dihydroxyindoles. *Biochem. Jour.*, 66(4):713-720.
- DEPOORTERE, H. & N. MAGIS, 1967. Mise en évidence, localisation et dosage de la chitine dans la coque des oeufs de Brachionus leydigii Cohn et d'autres Rotifères. *Ann. Soc. Roy Zool. Belg.*, 97:187-195.
- DUNCAN, C. J., 1960a. The evolution of the pulmonate genital system. *Proc. Zool. Soc. London*, 134:601-609.
- DUNCAN, C. J., 1960b. The genital system of the freshwater Basommatophora. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 135:339-356.

- DUNCAN, C. J., 1975. **Reproduction**. En: **Pulmonates**, Vol. 1 Functional Anatomy and Physiology. (V. Fretter & J. Feake, ed.), Academic Press, London and N. Y., 309-365.
- FANTIN, A. M. B. & E. VIGO, 1968. Histochemistry of the glands associated with the reproductive tract of Lymnaea stagnalis. **Histochemie**, 15:300-311.
- GABE, M., 1968. **Techniques histologiques**. Masson ed., Paris, 1113 pp.
- GANTER, P. & G. JOLLES, 1969-1970. **Histochimie Normale et Pathologique**. Gauthier-Villars, Paris, 1904 pp.
- GEORGE, J. C. & C. JURA, 1958. A histochemical study of the capsule of the egg of a land snail Succinea ovata. **Proc. kon. ned. Akad. Wet.**, 61:598-603.
- GLENNER, G. G., 1980. Amyloid deposits and amyloidosis. **N. England J. Med.**, 302:1283-1292.
- GRAY, P., 1975. **The microtome's formulary and guide**. Krieger Publishing Company, Huntington, New York, 794 pp.
- GRIFFOND, B. & D. BOLZONI-SUNGUR, 1986. Stages of oogenesis in the snail, Helix aspersa: cytological, cytochemical and ultrastructural studies. **Reprod. Nutr. Develop.**, 26(2A):461-474.
- GURR, E., 1960. **Methods of analytical histology and histochemistry**. Williams & Wilkins ed., Baltimore, 327 pp.
- HARTWIG, H. G.; MM. P. BRISSON; I. LYNCKER & J. P. COLLIN, 1980. Aminergic systems in Pulmonate Gastropod Molluscs. III. Microspectrofluorometric characterization of the reproductive system monoamines. **Cell. Tissue Research**, 210:223-234.
- HASHIMOTO, K. & LL. YOONG ONN, 1971. Lichen amyloidosis: electron microscopic study of atypical case and review. **Arch. Dermatol.**, 104:648-667.
- HOLM, L. W., 1946. Histological and functional studies on the genital tract of Lymnaea stagnalis appressa Say. **Trans. Amer. Microsc. Soc.**, LXV(4):45-68.
- HUBENDICK, B., 1947. Phylogenetic relation between the higher limnic Bascommatophora. **Zool. Bidrag. Uppsala**, 25:141-164.

- HYLTON SCOTT, M. L., 1957. Anotaciones sobre la morfología de Tropicorbis peregrinus (D'Orbigny). *Rev. Museo La Plata (n.s.)*, VIII zool., 50:1-22.
- JEANLOZ, R. & E. FORCHIELLE, 1950. Recherches sur l'acide hyaluronique et les substances apparentées. III. La détermination de la structure de la chitine par oxydation avec l'ion periodate. *Helvetica Chim. Acta*, 33(6):1690-1697.
- JONG-BRINK, M. de. 1969. Histochemical and electron microscope observations on the reproductive tract of Biomphalaria glabrata, intermediate host of Schistosoma mansoni. *Z. Zellforsch.*, 102:507-542.
- JONG-BRINK, M. de; A. de WIT; G. KRAAL & H. H. BOER, 1976. A light and electron microscope study on oogenesis in the freshwater pulmonate snail Biomphalaria glabrata. *Cell. Tiss. Res.*, 171:195-219.
- JOOSSE, J. & D. REITZ, 1969. Functional anatomical aspects of the ovotestis of Limnaea stagnalis L. *Malacologia*, 9(1):101-109.
- JURA, C. & J. C. GEORGE, 1958. Observations on the jelly mass of the eggs of three molluscs, Succinea putris, Limnaea stagnalis and Planorbis corneus with special reference to matachromasia. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.*, 61:590-594.
- KITAJIMA, E. W. & W. L. PARAENSE, 1983. The ultrastructure of the spermatheca of Biomphalaria glabrata (Gastropoda, Pulmonata). *J. Morphol.*, 176:211-220.
- KUGLER, O. E., 1965. A morphological and histochemical study of the reproductive system of the slug Philomycus carolinianus (Bosc.). *J. Morphol.*, 116:117-132.
- LANGERON, M., 1934. *Précis de microscopie*. Masson y Cie., Paris, 1205 pp.
- LILLIE, R. D., 1960. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3d ed. McGraw-Hill Book Co., New York 36, 715 pp.
- LOCQUIN, M & M. LANGERON, 1978. *Manuel de microscopie*. Masson, Paris, 352 pp.

- LUSIS, O., 1961. Postembryonic changes in the reproductive system of the slug Arion ater rufus L. *Proc. Zool. Soc. London*, 137(3):433-468.
- LUSIS, O., 1962. Pigment of the hermaphrodite gland of Arion ater rufus L. *Nature*, 194:1191-1192.
- MARTOJA, R. & M. MARTOJA-PIERSON, 1970. **Técnicas de histología animal**. Totay-Masson, Barcelona, 350 pp.
- Mc MAHON, P.; T. von BRAND & M. O. NOLAND, 1957. Observations on the polysaccharides of aquatic snail. *J. cell. comp. Physiol.*, 50:219-239.
- MEENAKSHI, V. R. & B. T. SCHEER, 1968. Studies of the carbohydrates of the slug Ariolimax columbianus with special reference to their distribution in the reproductive system. *Comp. Biochem. Physiol.*, 26:1091-1097.
- MORETTO, H. J. A., 1980. Moluscos hospedadores de helmintos. *Ciencia e Investigación*, 36(1-2):3-13.
- MORETTO, H. J. A. & D. E. NAHABEDIAN, 1980. El complejo penial de Biomphalaria peregrina (Planorbidae, Mollusca). *Ciencia e Investigación*, 36(1-2):28-34.
- MORETTO, H. J. A. & D. E. NAHABEDIAN, 1982. Sobre la autofecundación en dos especies neotropicales de Planorbidae (Mollusca). *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, CCXIII:39-47.
- MORETTO, H. J. A. & D. E. NAHABEDIAN, 1983. La rádula de Ampullaria canaliculata (Prosobranchia, Mollusca). *Comunicaciones M. A. C. N. "Bernardino Rivadavia"*, Hidrobiología, II (9):107-117.
- MORETTO, H. J. A. & D. E. NAHABEDIAN, 1985. Un oligoqueto simbiote de Biomphalaria tenacophila (Planorbidae, Mollusca) del delta del Paraná. *Comunicaciones M. A. C. N. "Bernardino Rivadavia"*, Hidrobiología, II (15):159-166.
- MORETTO, H. J. A. & D. E. NAHABEDIAN, 1987. Sobre el sistema reproductor de Biomphalaria peregrina (Gasteropoda, Pulmonata, Planorbidae). *Anal. Acad. Nac. Cs. Ex. Fis. Nat.*, 39:195-217.

- PARAENSE, W. L. & N. DESLANDES, 1955. Observations on the morphology of Australorbis olabratus. **Memo. Inst. O. Cruz.**, 53:87-103.
- PATTERSON, C. M. & J. B. BURCH, 1978. **Chromosomes of pulmonates molluscs**. En: **Pulmonates**, Vol. 2A, Systematics, Evolution and Ecology, (V. Fretter & J. Peake, ed.), Academic Press, London and N. Y., 171-217 pp.
- PEARSE, A. G. E., 1968 - 1972. **Histochemistry theoretical and applied**. Third edition. Churchill. London, 1518 pp.
- PEUTE, J. & J. C. VAN DE KAMER, 1967. On the histochemical differences of aldehyd-fuchsin positive material in the fibres of the hypothalamo-hypophysial tract of Rana temporaria. **Z. Zellforsch.**, 63:441-448.
- PONT LEZICA, R. & L. QUESADA-ALLUE, 1990. **Chitin** En: **Methods in Plant Biochemistry**. Vol. 2, Cap. 13, Academic Press, London and N. Y., 443-481 pp.
- PUCHTLER, H.; F. SWEAT & M. LEVINCE, 1962. On the binding of Congo red by amyloid. **J. Histochem. Cytochem.**, 10:355-363.
- RANGARAO, K., 1963a. The composition of egg capsules of the pulmonate snail Ariophanta liquilata. **Curr. Sci.**, 32:213-214.
- RANGARAO, K., 1963b. The polysaccharides of the reproductive system of the land snail Ariophanta liquilata in the formation of egg capsules. **J. Anim. Morph. Physiol.**, 10:158-163.
- RAVETTO, C., 1964. Alcian blue - Alcian yellow: a new method for identification of different acidic groups. **J. Histochem. Cytochem.** 12:44-51.
- RICHTER, E., 1935. Der Bau der Zwitterdrüse und die Entstehung der Geschlechtzellen bei Agriolimax acrestis L. **Jena. Z. Naturw. N. F.**, CXIX:507-533.
- ROGERS, S. H. & R. L. REEDER, 1987. Structure and function of the spermatheca in a snail host of schistosomiasis, Biomphalaria glabrata. **J. Morphol.**, 191:295-308.
- SANCHEZ, M. & H. J. A. MORETTO, 1988. A new genus of freshwater hoplonemertea from Chile. **Zool. J. Linnean Soc. London**, 92:193-207.

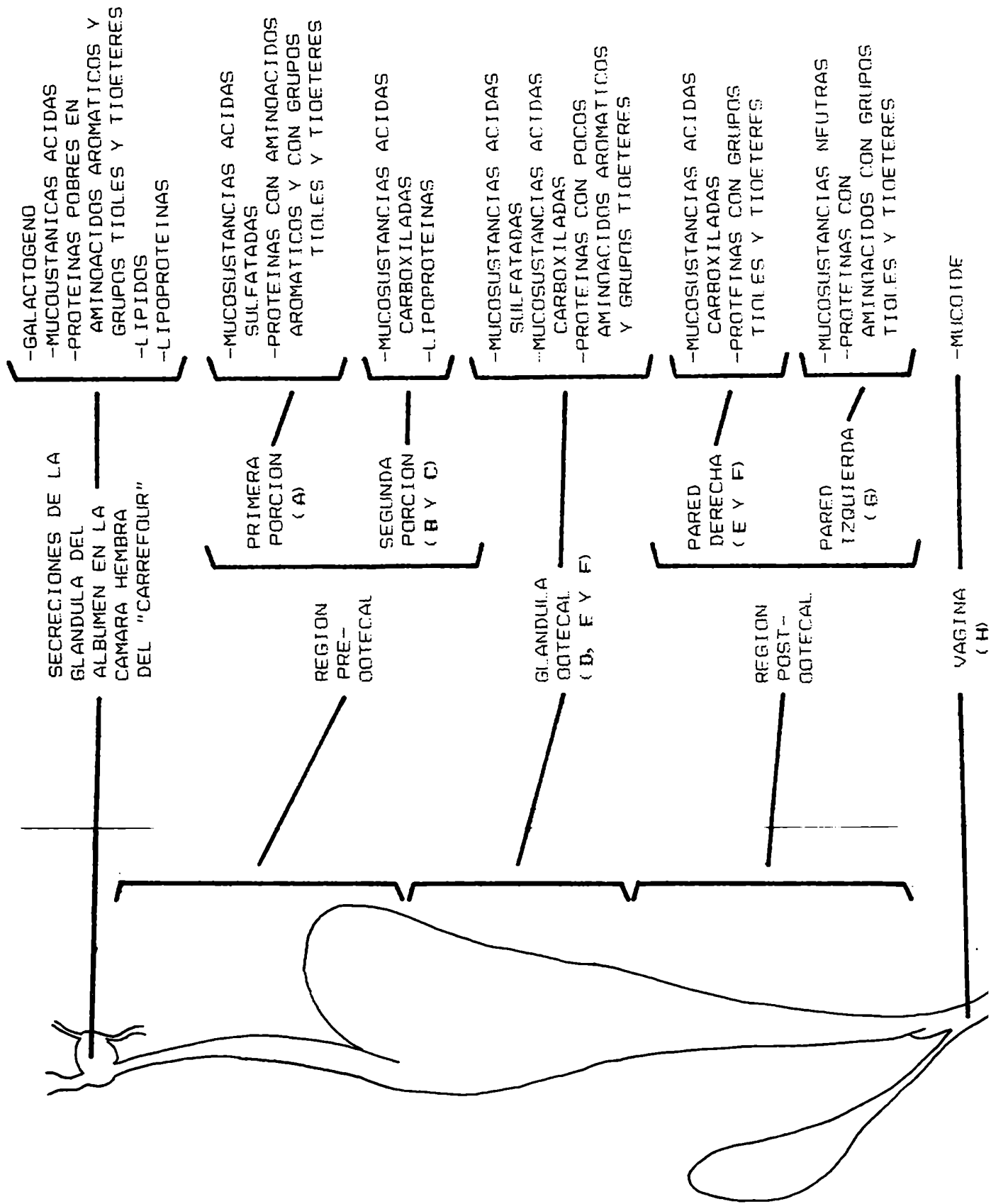


Figura 2: Distribución de las distintas secreciones en el tracto hembra de *Biomphalaria*; A, B, C, D, E, F, G y H = tipos celulares de acuerdo a sus secreciones.

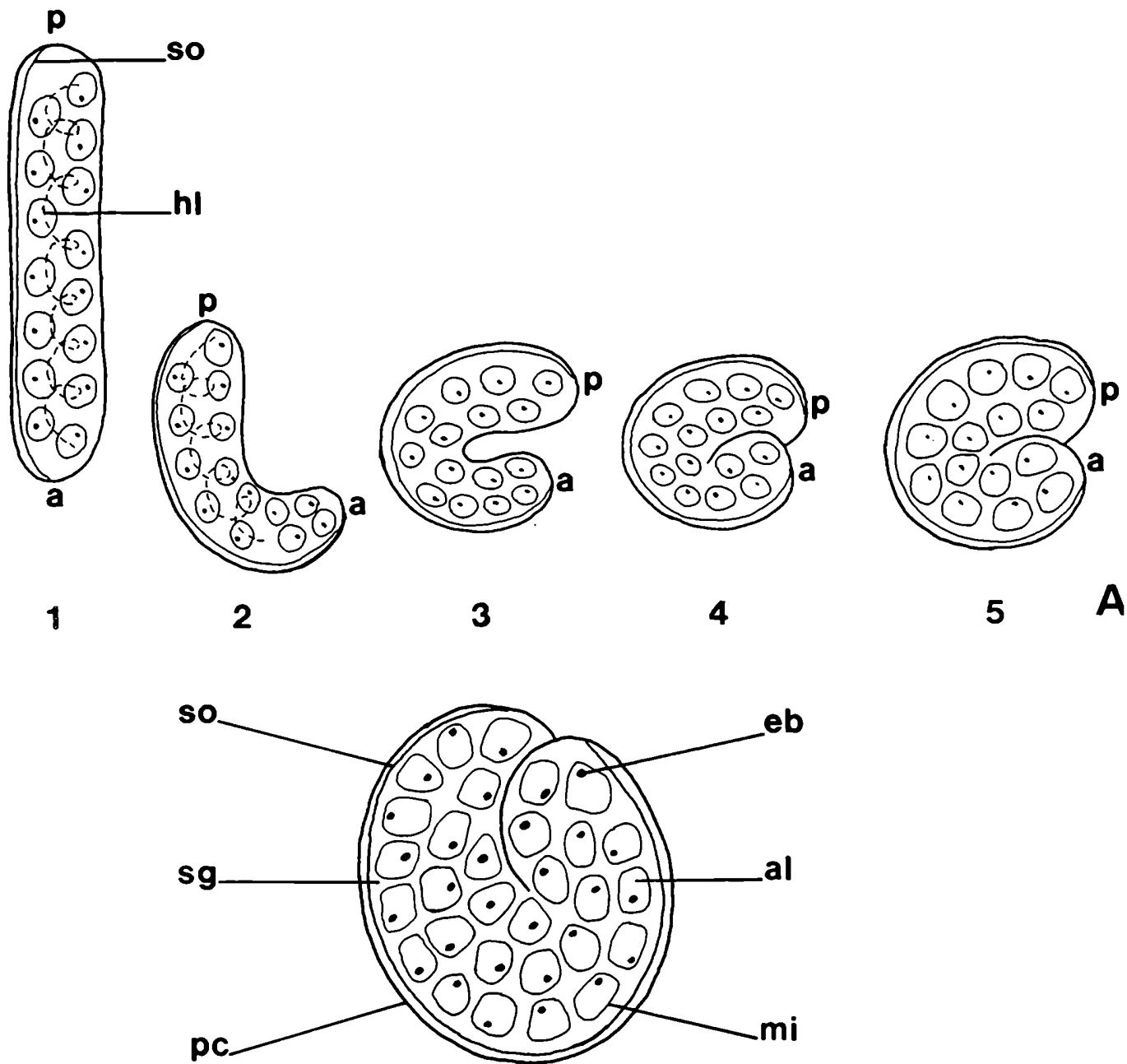


Figura 3 A - B: A, Secuencia en la ovodeposición de una cápsula de los huevos; B, Cápsula de los huevos de *Biomphalaria glabrata*. 1= cápsula de los huevos al salir del gonoporo hembra, con una disposición helicoidal de los huevos (hl); 2= cuando su extremo anterior (a) toma contacto con el sustrato y el posterior (p) sale del gonoporo hembra; 3= flexión de la cápsula por rotación del animal, hacia su derecha; 4= cápsula flexionada sobre el sustrato; 5= cápsula definitiva luego de que el animal se deslice sobre ella. Abreviaturas: al= fluido perivitelino o albumen; cp= comienzo de la cápsula; eb= embrión; fp= final de la cápsula; mi= membrana perivitelina o interna; pc= pared capsular; sg= sustancia gelatinosa y so= sutura opercular. Escala: 5 mm.

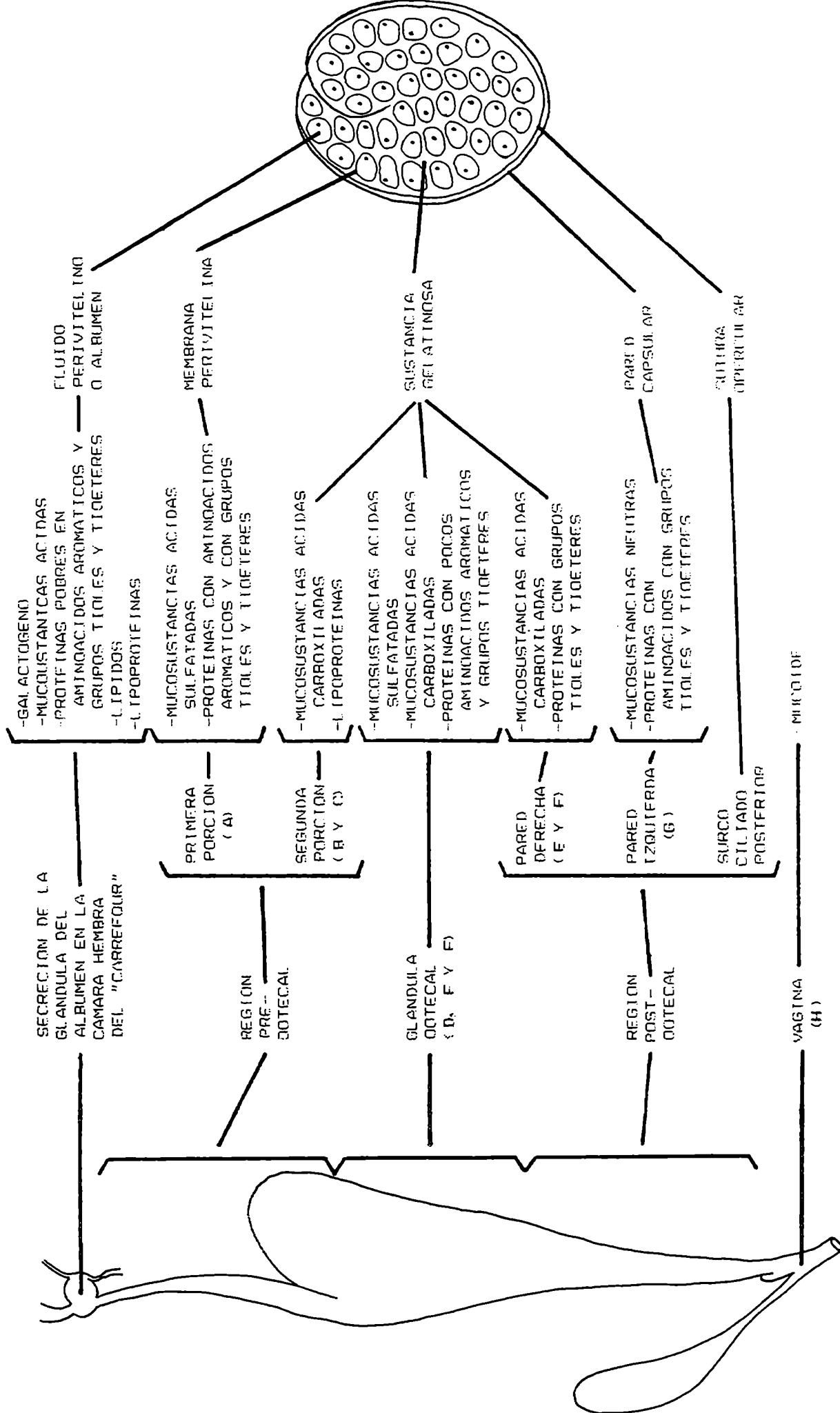


Figura 4: Relación de los distintos tramos del tracto hembra y sus secreciones, con las distintas partes de la cápsula de los huevos en *Biomphalaria*; A, B, C, D, E, F, G y H = tipos celulares de acuerdo a sus secreciones.



Figura 5 A - I: A. Paraneuronas (---->); B. Células pigmentadas ocre; C - I, "Masa cáctica" de *Biomphalaria glabrata*. A. Tri - APS B y H. Método de Schmorl. C, Basofilia con azul de toluidina. D: Método de Ziehl - Neelsen. E, Método de Hayes. F y G. Negro Sudan B I Hale; al= fluido perivitelino o albumen, cb= cuerpo basófilo, ea= esferas amarillas, el= epitelio de la cámara hembra. gc= gránulo de cromolipóide, gd= epitelio de la glándula digestiva, hc= hemocèle, ls= lumen de la cámara de maduración, mt= matriz y po= célula con pigmento ocre. Escalas: 50 μ m.

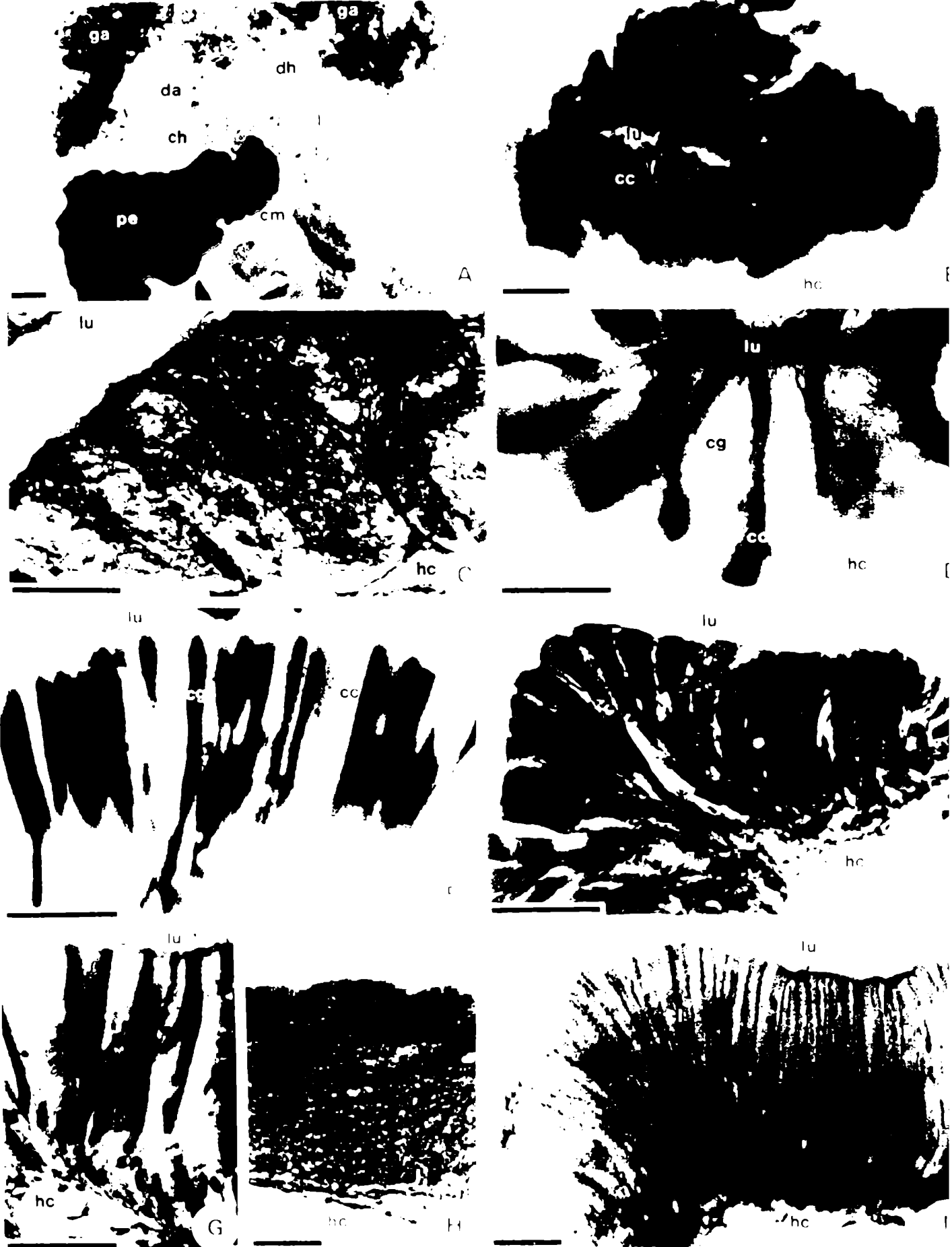


Figura 6 A - I: A. zona del "carrefour"; B - I. oviducto: B, pre-ovotecal, primer tramo; C, D y E pre-ovotecal, segundo tramo; F, glándula ootecal; G. pared derecha, post-ovotecal; H y I, pared izquierda, post-ovotecal. *Biphalaria glabrata*. A, B y D. Método de Feyter; C, F, G y H. Tri-APS; E. Lipoproteínas por "desenmascaramiento"; I Negro Sudan. cc= célula columnar, cg= célula globosa, ch= cámara hembra, cl= célula cilindrada, cm= cámara macho, de= ducto excretor de la glándula del albumen, dh= ducto hermafrodita, ga= glándula del albumen, hc= hemocele, lu= lumen, pe= oviducto pre-ovotecal y ve= vas efferens. Escalas. 50 μ m. 10

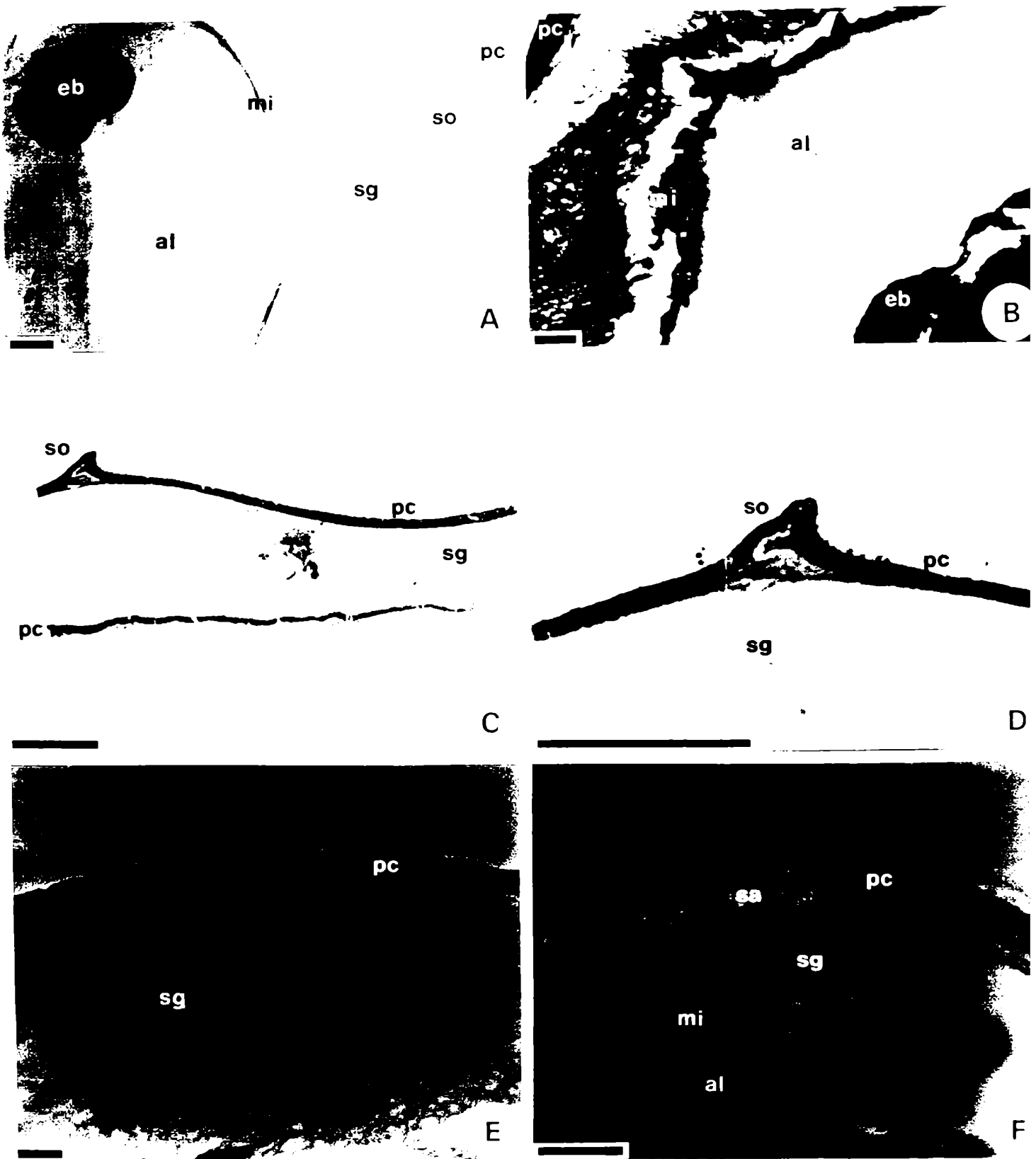


Figura 7 A - F: Cápsula de huevos de *Biomphalaria glabrata*. A. Natural; B, Metacromacia: azul de toluidina, pH 3,4 + nitrato de uracilo en medio acuoso; C y D, Corte fino del borde de la cápsula de los huevos, mostrando la sutura opercular, Fucsina básica - azul de toluidina; E, Método de Schuize (líquido de lupol - ácido sulfúrico) y método de Feyter; F, Método de Bennhold, variante de Puchtler + birrefringencia, demostrando la sustancia amiloide; al = fluido perivitelino o albumen, eb = embrión, mi = membrana perivitelina o interna, pr = pared capsular, sa = sustancia amiloide, sg = sustancia gelatinosa y so = sutura opercular. Escalas: 50 μ m.



Figura 8 A - G: A. Ovocito en movimiento y estadios de espermatogonias; B. Gránulos de vitelo y mitocondrias en ovocito; C. Cristal de vitelo; D. Ovocito, espacio folicular y trofocito; E. Trofocito folicular con laberinto basal, junto a la "masa caótica"; F. Lisosomas secundarios en trofocito folicular; G. Gránulos de melanina en una célula con pigmento negro. *Biomphalaria glabrata*. A, corte fino. Azul de toluidina; B - G, MET; cd= colas de espermátidas, ci= cisternas periféricas, cn= célula nodriza de la línea hembra, cs= conectivo de la pared del saco de maduración, cz= colas de espermatozoides, ee= estadio "epitelioide", ef= espacio folicular, eo= espermatogonias, gc= gránulo de cromolipóide, gv= gránulo de vitelo, hc= hemocèle, lb= laberinto basal, ls= lumen del saco de maduración, ll= lámina basal, mt= mitocondrias, mc= núcleo de la célula nodriza de la línea hembra, nm= núcleo de la célula nodriza de la línea macho, om= ovocito maduro, op= ovocito previtelico y se= lisosoma secundario. Escalas: A, 10 μ m; B, C, E, F, G, 1 μ m; C, 0,1 μ m.

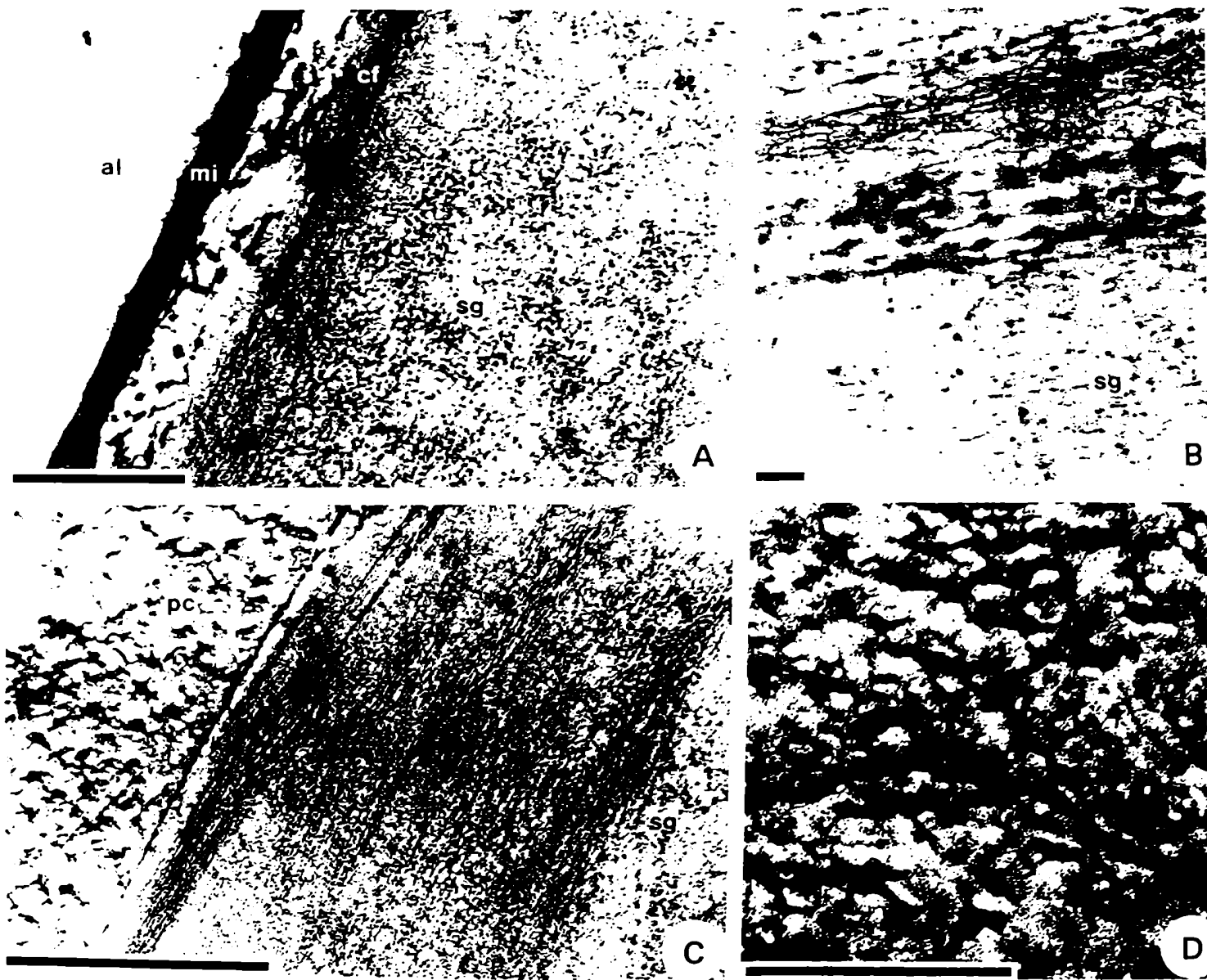


Figura 9 A - D: A. Membrana interna y sustancia gelatinosa de la cápsula de los huevos; B. Sustancia gelatinosa; C. Sustancia gelatinosa y pared capsular; D. Pared capsular. Biomphalaria glabrata, MET. al= fluido perivitelino o albumen, cf= capa de microfibras entrelazadas de igual orientación, mi= membrana perivitelina o interna, pc= pared capsular y sg= sustancia gelatinosa. Escalas: A y D, 1 μ m; B, 0.1 μ m; C, 10 μ m.

FIGURA 5. E - I: Pa...
Métrica...
Piel...
Clase...
...
...
...