

ESTRUCTURA Y ULTRAESTRUCTURA DE LA REGIÓN TESTICULAR DEL APARATO GENITAL MASCULINO DE *Dina lineata* (Hirudinea, Erpobdellidae)

S. Bonet

Departament de Biologia Cel·lular i Fisiologia. Col·legi Univeristari de Girona (UAB).
Hospital, 6. 17071 - Girona.

RESUM

La regió testicular de l'aparell genital masculí de *Dina lineata* està formada pels sacs testiculars i els conductes eferents i deferents.

Els sacs testiculars es disposen helicoidalment a l'entorn d'ambdós conductes deferents amb un pas aproximat de cinc unitats per volta, i s'estenen des del metàmer XXIV al XX. Cada sac testicular, d'1 mm de diàmetre, té forma oval-arrodonida i, donada la finesa de la seva paret, presenta un aspecte translúcid molt característic. Estan revestits per un epitelí mesotelial amb dues categories cel·lulars: les cèl·lules pavimentoses i les cèl·lules cúbico-ciliades. Contenen els diversos estadis evolutius de la línia germinal masculina i una població de cèl·lules fagocítiques de funció macrofàgica.

Cada sac testicular aboca en un *conducte eferent* molt curt i prim, revestit per un epitelí isodiamètric ciliat.

El *conducte deferent* recull el producte germinal dels conductes eferents i el condueix des del metàmer XXIV al XX. En tota la seva longitud està revestit per un epitelí cúbico-ciliat, no presenta cap beina muscular associada i té un trajecte rectilini dèbilment sinuós.

RESUMEN

La región testicular del aparato genital masculino de *Dina lineata* está formada por los sacos testiculares y los conductos eferentes y deferentes.

Los sacos testiculares se disponen helicoidalmente alrededor de ambos conductos deferentes con un paso aproximado de cinco unidades por vuelta y se extienden desde el metámero XXIV al XX. Cada saco testicular, de 1 mm de diámetro, tiene forma oval y, dada la finura de su pared, ofrece un aspecto translúcido muy característico. Están revestidos por un epitelio mesotelial con dos categorías celulares: las células pavimentosas y las células cúbico-ciliadas. Contienen los diversos estadios evolutivos de la línea germinal masculina y una población de células fagocíticas con actividad macrofágica.

Cada saco testicular desemboca en un *conducto eferente*, muy corto y delgado, revestido por un epitelio isodiamétrico y ciliado. El *conducto deferente* recoge el producto germinal de los conductos eferentes y lo conduce desde el metámero XXIV al XX. En toda su longitud se halla revestido por un epitelio cúbico-ciliado, no presenta vaina muscular asociada y describe un trayecto rectilíneo débilmente sinuoso.

ABSTRACT

The testicular region of the male reproductive tract of *Dina lineata* consists of the testis sacs, the vasa efferentia and two vasa deferentia. It is situated in segments XXIX to XX.

The testis sacs are arranged spirally around the two vasa deferentia. Short vasa efferentia connect the testis sacs to the vasa deferentia of each side.

The testis are oval celomic sacs. Each one is covered with the mesotelial epithelium which consist in two types of cells: the flat cells and the cubic-ciliated cells. Inside the sacs there is every stage of maturity of the male germinal line and some phagocytic cells.

The vasa efferentia and the vasa deferentia are covered with an isodiametric-ciliated epithelium with microvilli.

Key words: ultraestructure, male reproductive tract, testis, Hirudinea leeches, *Dina lineata*.

INTRODUCCIÓN

El aparato genital masculino de *D. lineata* presenta tres regiones bien definidas: región testicular, región epididimaria y región atrial (Fig. 1).

Región testicular: Los sacos testiculares se disponen helicoidalmente, con un paso no superior a cinco unidades por vuelta, alrededor de los dos conductos deferentes formando sendos cordones que se extienden desde el metámero XXIV al XX. Cada saco testicular, de un diámetro no superior a 1 mm, tiene forma oval redondeada y un aspecto translúcido muy característico. Cada saco testicular comunica con el conducto deferente mediante un conducto eferente muy corto, prácticamente inexistente. El conducto deferente, de un diámetro de unos 0,05 mm, recoge el producto germinal de los sacos testiculares y lo lleva desde el metámero XXIV al XX. El conducto deferente presenta el mismo diámetro en toda su longitud, y un trayecto rectilíneo débilmente sinuoso.

Región epididimaria. A nivel del metámero XIX, el conducto deferente se engruesa súbitamente (de 0.05 mm a 0,4 mm) y toma una trayectoria helicoidal; se trata del conducto epididimario. El epidídimo se extiende en sentido postero-anterior, y a cada lado de la cadena nerviosa, desde el metámero XIX al XI, después describe un asa hasta llegar al metámero XII y vuelve a subir hasta encontrar el cuerno atrial en el metámero XI.

Región atrial: Los dos conductos epididimarios, a nivel del metámero XI, presentan un diámetro no superior a los 0,1 mm y se continúan con un par de conductos de un diámetro de unos 0,4 mm; se trata de los cuernos atriales. Estos dos conductos, de forma curvada muy característica, se fusionan en un cuerpo común, el cuerpo atrial, de un diámetro no superior a 1 mm. Dicho cuerpo se abre ventralmente al exterior por el gonópodo masculino situado entre los anillos b_2 y a_2 del metámero XII.

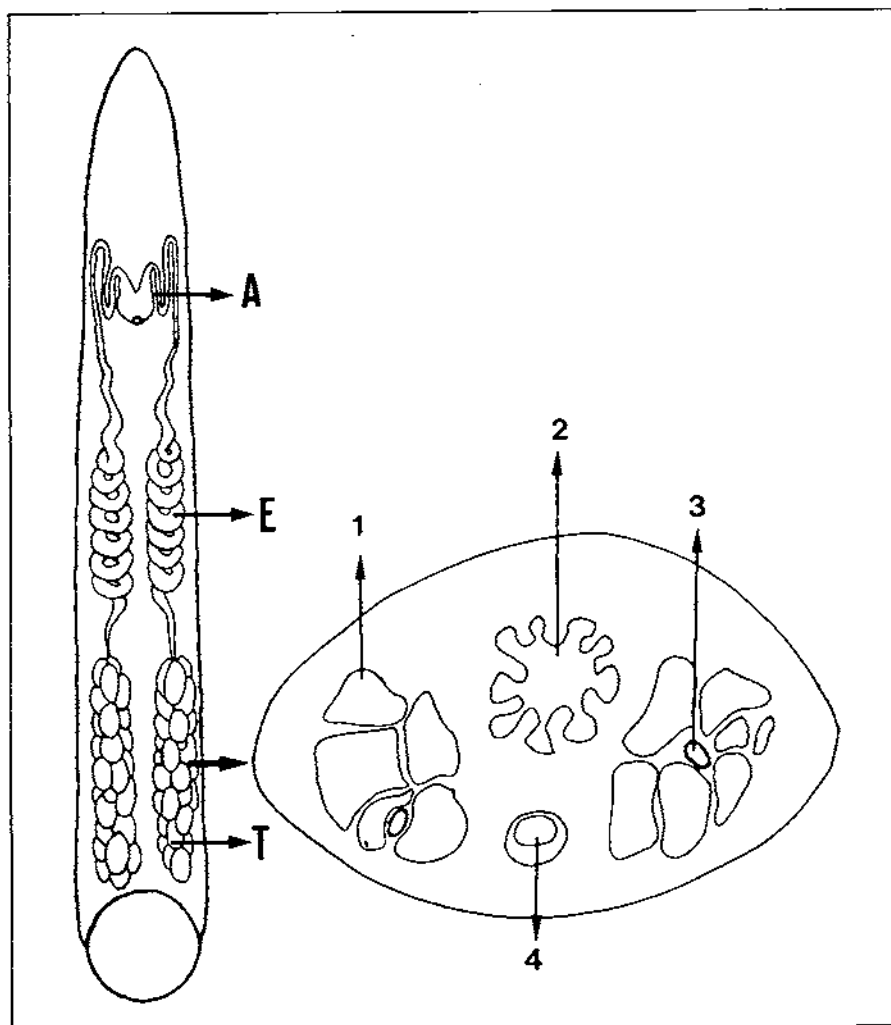


Figura 1. Esquema que muestra las tres regiones del aparato genital masculino de *D. lineata*: región testicular (T), región epididimaria (E), y región atrial (A). Véase también un esquema de la sección transversal del animal a nivel de la región testicular: saco testicular (1), intestino (2), conducto deferente (3), y cadena nerviosa ventral (4).

MATERIAL Y MÉTODOS

D. lineata es una sanguijuela dulceacuícola muy común en los ríos y riachuelos de nuestra Península. Los ejemplares utilizados en este estudio fueron recogidos entre los meses de septiembre y enero en el río Ter a su paso por Camprodón (Girona).

Las preparaciones para microscopía óptica se realizaron fijando las mues-

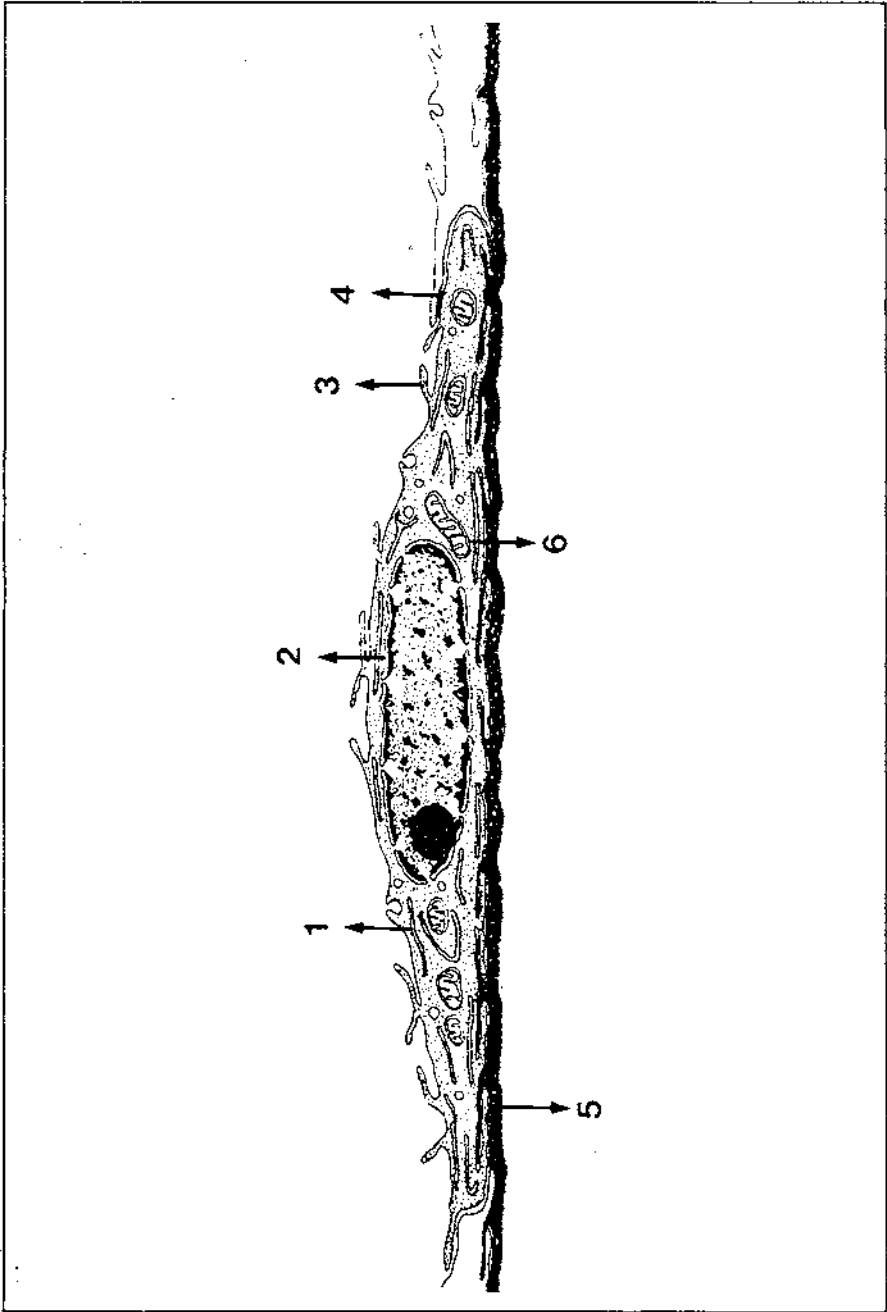


Figura 2. Esquema que muestra el aspecto de una célula mesotelial pavimentosa: retículo endoplasmático rugoso (1), núcleo (2), microvillis (3), uniones intercelulares (4), digitaciones citoplasmáticas basales con hemidesmosomas (5) y mitocondrias (6).

tras en formalina al 10% en tampón fosfato de Sörensen pH 7,4, incluyendo en Glicol metacrilato (Bonet y Molinas, 1983), y coloreando los cortes según las técnicas descritas por los autores Bonet y Huguet (1985).

Para su observación al microscopio electrónico de transmisión, las muestras se fijaron en líquido de Karnovsky (Santander, 1968), se postfijaron en tetraóxido de osmio, se lavaron en tampón fosfato 0,2 M pH 7,4, y se incluyeron en resina Spurr (Spurr, 1969). Los cortes obtenidos y contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo (Reynolds, 1963) fueron observados con un Hitachi HV 12-A del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad Autónoma de Barcelona.

OBSERVACIONES

La región testicular está formada por los sacos testiculares y los conductos eferentes y deferentes.

1. *Pared de los sacos testiculares*

La pared de los sacos testiculares está formada por un epitelio monoestratificado de origen mesodérmico que descansa sobre una membrana basal muy delicada.

El saco testicular propiamente dicho está revestido de un epitelio mesotelial pavimentoso, tanto más plano cuanto más dilatado está el saco celómico. La zona de la cavidad testicular que comunica con el conducto eferente presenta un epitelio mesotelial isodiamétrico y ciliado.

1.1 *Células mesoteliales pavimentosas (Fig. 2)*

Se trata de células extraordinariamente planas. Su diámetro está alrededor de los 20 micrómetros y su altura máxima es de unos 3 micrómetros. Estas medidas pueden variar ligeramente en relación al grado de dilatación del saco.

El citoplasma presenta una distribución homogénea de los orgánulos celulares. Cabe destacar la abundante presencia de mitocondrias bacilares, vesículas del retículo endoplasmático rugoso, orientadas paralelamente a la superficie celular de descanso, y una densa población ribosómica responsable de la ligera basofilia y electrodensidad del citoplasma (Fig. 3).

Ambos polos celulares emiten finísimas prolongaciones citoplasmáticas filiformes. Dichas microvellosidades, que en la superficie libre presentan una longitud de unos 1,2 micrómetros y una función pinocítica, en la base son más largas (del orden de unos 3,8 micrómetros), se introducen paralelamente entre la membrana basal y tienen una función de anclaje, al mismo tiempo que permiten la extensión de la célula a medida que progresa la dilatación del saco testicular.

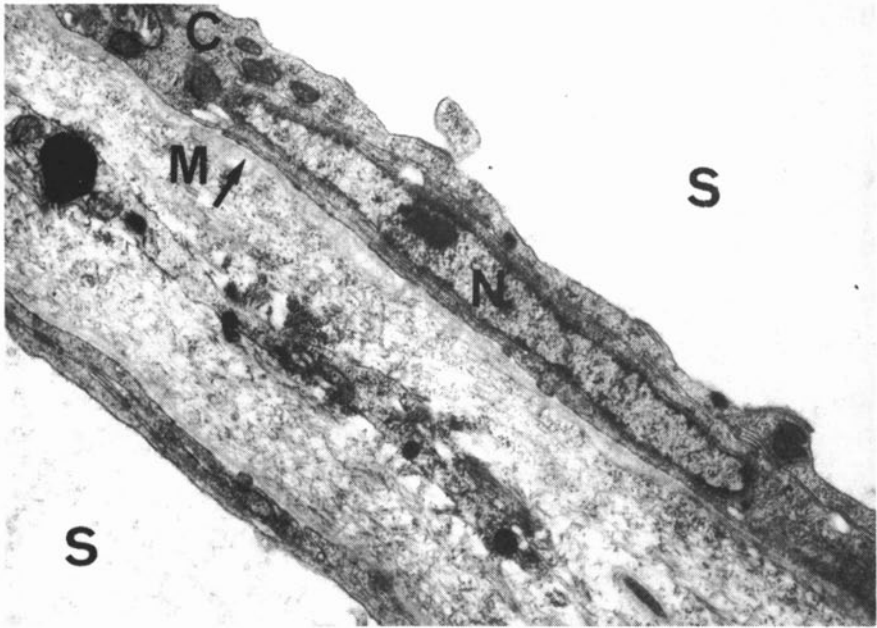


Figura 3. Célula mesotelial pavimentosa: cavidad del saco (S), membrana basal (M), núcleo (N) y citoplasma (C). (14.000 X).

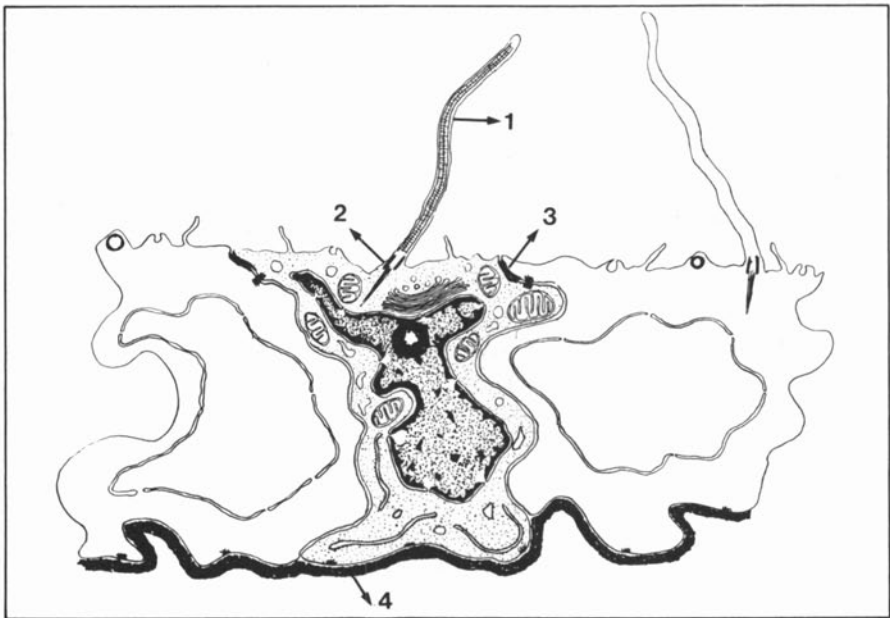


Figura 4. Esquema que muestra el aspecto de una célula mesotelial cúbica ciliada: ciclo (1), raíz ciliar (2), unión intercelular (3) y membrana basal (4).

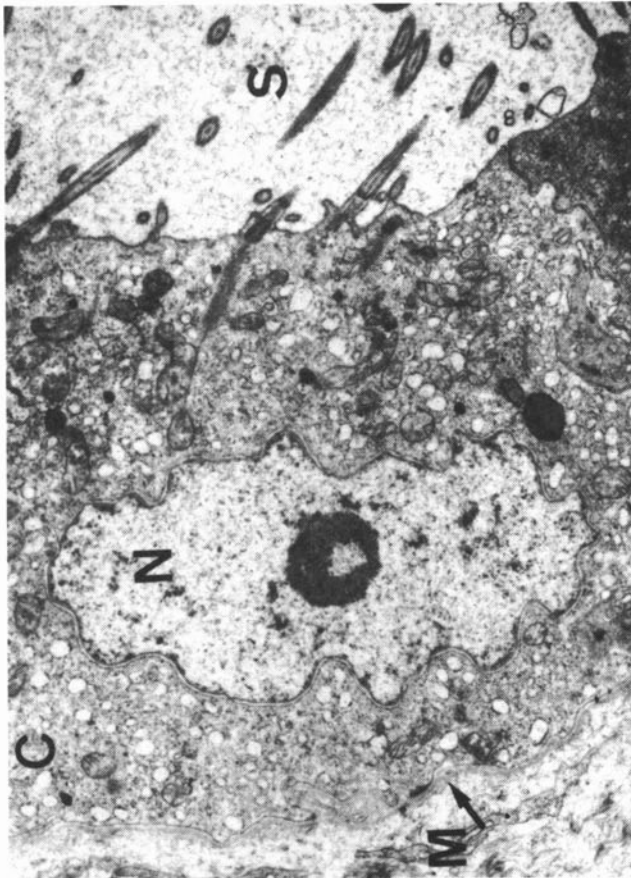
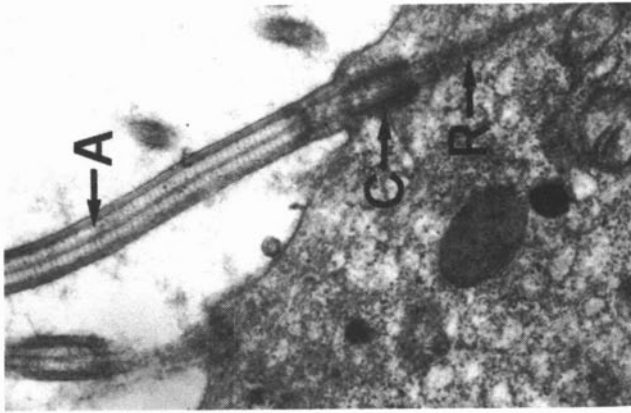


Figura 5. Célula mesotelial cúbico-ciliada: cavidad del saco (S), membrana basal (M), núcleo (N) y citoplasma (C). (9.600 X).

Figura 6. Sección longitudinal de un cilio de una célula cúbico-ciliada: axonema (A), cuerpo basal (C) y raíces ciliares (R). (24.000 X).

Entre dos células vecinas encontramos interdigitaciones profundas y uniones especiales del tipo zónula adherens. Las células descansan sobre la lámina basal, muy delicada y homogénea, y se unen a ella por medio de hemidesmosomas localizados en las microvellosidades citoplasmáticas basales.

Por debajo de la membrana basal hay un tejido conectivo rico en fibras colágenas, agrupadas en haces no orientados, y células conjuntivas tipo fibroblasto y macrófago.

1.2 Células mesoteliales cúbico-ciliadas (Fig. 4)

Se trata de células isodiamétricas de unos 10 micrómetros de diámetro. En el citoplasma, si bien los ribosomas y las vesículas del retículo endoplasmático rugoso se distribuyen homogéneamente, las mitocondrias y las unidades dictiosómicas se disponen mayoritariamente en el polo apical, por encima del núcleo (Fig. 5).

El núcleo, de contorno irregular y con cromatina granular y muy fina, presenta zonas de condensación heterocromática asociadas a la membrana interna de la cubierta nuclear. El nucleolo, de unos 2,5 micrómetros, es redondeado, único y muy electrodensó.

En la superficie libre encontramos cilios y microvellosidades. Los cilios, de una longitud de unos 10 micrómetros, presentan una estructura axonemática típica (9+2) y se organizan a partir de los cuerpos basales anclados al citoplasma por medio de unas raíces ciliares muy profundas (Fig. 6). El movimiento de los cilios acompaña a los espermatozoides hacia la luz de los conductos eferentes. El diámetro de los cilios (0,2 micrómetros) contrasta con la delicadeza de los microvilli (0,1 micrómetros) relacionados con procesos de pinocitosis.

Las células se unen mediante interdigitaciones citoplasmáticas profundas y zónulas adherens terminales de longitud considerable (0,75 micrómetros). Descansan sobre una membrana basal a la que se unen fuertemente por medio de hemidesmosomas. A diferencia de las células pavimentosas, no emiten prolongaciones citoplasmáticas basales. El mecanismo que permite adaptarse a la progresiva dilatación de los sacos testiculares es el trayecto sinusoide que describe la membrana basal.

2. Pared de los conductos eferentes y deferentes

Los espermatozoides son conducidos a la estrecha luz de los conductos eferentes y, de éstos, a los conductos deferentes.

La pared de los conductos eferentes y deferentes está formada por el mismo tipo de células cúbico-ciliadas que tapiza la pared del embudo de los sacos testiculares (Fig. 7).

Las características diferenciales entre los dos conductos son: el diámetro

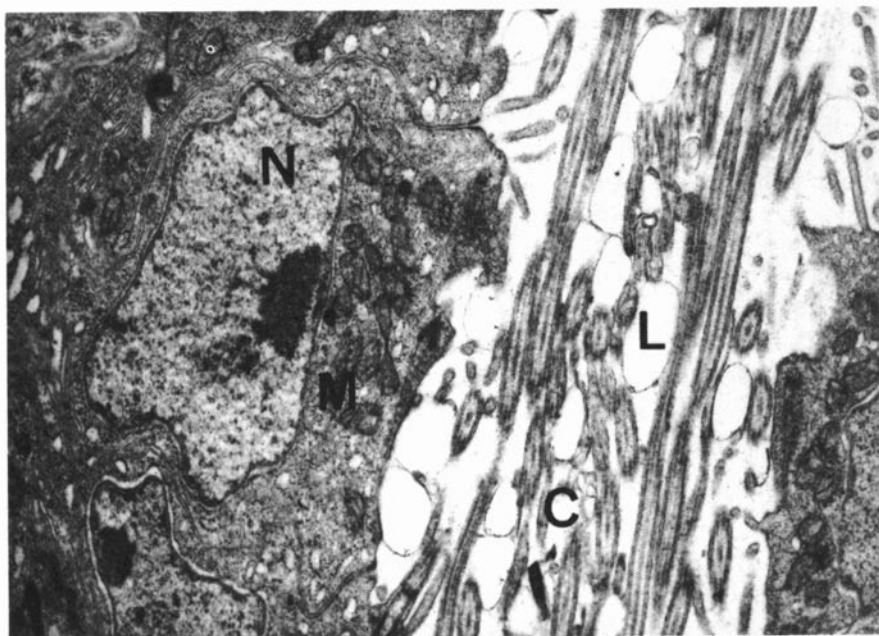


Figura 7. Sección longitudinal del conducto deferente: luz del conducto (L), núcleo (N), mitocondrias (M) y cilios (C). (14.000 X).

de su luz, la superficie libre de su epitelio, el trayecto de la membrana basal y la presencia o ausencia de células musculares asociadas.

La luz de los conductos eferentes es muy estrecha, del orden de unos 2,5 micrómetros de diámetro, mientras que la de los conductos deferentes aumenta hasta unos 10 micrómetros.

En la superficie libre del epitelio que reviste a los conductos eferentes, los cilios son muy abundantes y los microvilli cortos y muy delgados. En los conductos deferentes la población ciliar disminuye ligeramente y los microvilli se hacen más largos y numerosos.

En los conductos eferentes la membrana basal presenta un trayecto rectilíneo mientras que en los conductos deferentes se observa un recorrido sinuoso.

Alrededor de los conductos eferentes no se observa nunca la presencia de fibras musculares asociadas. Sin embargo, es habitual encontrar células musculares orientadas helicoidalmente alrededor de los conductos deferentes.

DISCUSIÓN

El aparato genital masculino de los hirudíneos ha sido poco estudiado. Los trabajos que hay son en su mayoría anatómicos y, en algunos casos, aportan

algún detalle de su estructura al microscopio óptico. Brumpt (1900) estudió algunos aspectos de la reproducción de este grupo e hizo una descripción anatómica comparada de los aparatos reproductores femenino y masculino.

En muchos invertebrados los testículos se hallan formados por un conjunto de sacos dilatados y tapizados por un epitelio mesotelial pavimentoso y monoestratificado (Paniagua y Nistal, 1983). Los sacos testiculares de los hirudíneos son cavidades celómicas vestigiales limitadas por un mesotelio formado por dos categorías celulares: las células pavimentosas y las células ciliadas (Brumpt, 1900). Según Damas (1968 a y b) en estudios realizados con *Glossiphonia complanata*, las células ciliadas actúan como un verdadero epitelio germinativo, pierden sus cilios, se desprenden de la membrana basal e, incorporándose a la luz de los sacos, se convierten en las espermatogonias primitivas, es decir en las células madre de la línea germinal. Para Van Damme (1974), en sus estudios sobre la organogénesis del aparato reproductor masculino de *Erpobdella octoculata*, el origen de las células germinales no está en la descamación del mesotelio sino que hay que buscarlo en el cordón germinal primordial de un individuo juvenil a los pocos días de su salida del capullo. Las observaciones realizadas en nuestro laboratorio con *D. lineata* nos inclinan a apoyar la hipótesis de Van Damme (1974). El alto grado de diferenciación de las células cúbico-ciliadas hace poco probable que puedan considerarse como el origen de las espermatogonias primitivas. De hecho, en ninguna especie se ha descrito la formación de las células germinales por dediferenciación de células muy especializadas.

La estructura y ultraestructura de los conductos eferentes y deferentes de los clitelados han sido poco estudiadas. Fleming (1981) ha estudiado la morfología microscópica de estos dos conductos en *Tubifex tubifex*. En esta especie los sacos testiculares, de origen celómico, se abren en un corto conducto eferente limitado por un epitelio monoestratificado primático y ciliado. Los conductos deferentes están revestidos de un epitelio monoestratificado isodiamétrico y ciliado, y presentan una vaina muscular intrínseca formada por una única capa de fibras musculares. En *D. lineata* el conducto deferente está totalmente desprovisto de una vaina muscular como la descrita para *Tubifex* aunque puede observarse alguna fibra muscular aislada orientada helicoidalmente alrededor del conducto. El movimiento de los cilios y la contracción espasmódica de las pocas fibras musculares dispuestas alrededor de cada conducto deferente favorecerán el paso del espermatozoide hacia el epidídimo.

Bibliografía

- BONET, S. y MOLINAS, M. (1983). Utilitat del glicol metacrilat en l'obtenció de talls semifins per a histologia. *Ann. Sec. Cien. Col. Univ. Girona (UAB)* 9: 21-29.
- BONET, S. y HUGUET, G. (1985). Tècniques habituals de coloració per a seccions semifines de material inclòs en glicol metacrilat. *Scientia gerund.* 10: 23-32.
- BRUMPT, E. (1900). Reproduction des Hirudínees. *Mem. Soc. Zool. de Fr.* 13: 286-430.

- DAMAS, D. (1966a). Phénomène neurosécrétoire en rapport avec la reproduction de *Glossiphinia complanata*. *Bull. Soc. Zool. de Fr.* 91: 613-621.
- DAMAS, D. (1966b). Anatomie et histologie des canaux éjaculateurs de *Glossiphonia complanata*, (Hirudinée, Rhyncobdelle). *Arch. Zool. Exp. Gén.* 107: 325-336.
- DAMAS, D. (1968a). Histochimie des canaux éjaculateurs de *Glossiphonia complanata* (Hirudinée, Rhyncobdelle). *Ann. Histochim.* 13: 111-122.
- DAMAS, D. (1968b). Les cellules germinales mâles de *Glossiphonia complanata* (Hirudinée, Rhyncobdelle). Origen, evolution et eststructure, *Bull. Soc. Zool. de Fr.* 93: 375-385.
- PANIAGUA, R. y NISTAL, M. (1984). *Introducción a la anatomía microscópica animal comparada*. Ed. Labor.
- REYNOLDS, E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17: 208-216.
- SANTANDER, G. (1968). *Técnicas de microscopia electrónica en biología*. Ed. Aguilar.
- SPURR, A.R. (1969). A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastr. Res.* 26: 31-43.
- VAN DAMME, N. (1974). L'organogénèse de l'appareil génital chez la sangsue *Erpobella octoculata* (Hirudinée, Pharyngobdelle). *Arch. Biol. (Bruxelles)* 85: 373-397.