

Histología comparada del manto marginal y paleal de las almejas *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby, 1831) y *M. squalida* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae)*

SILVIA ALEJANDRA GARCIA-GASCA** y FEDERICO A. GARCIA-DOMINGUEZ***

Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN
Apartado Postal 592 La Paz, B.C.S. 23000, México

GARCÍA-GASCA, S.A. y F.A. GARCÍA-DOMÍNGUEZ. 1995. Histología comparada del manto marginal y paleal de las almejas *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby, 1831) y *M. squalida* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae). * *An. Esc. nac. Cienc. biol., Méx.*, **40**: 173-181.

RESUMEN: Se describe la histología normal de las zonas marginal y paleal del manto de dos especies de almejas de importancia pesquera y potencial en acuicultura. Para ambas especies se describen cinco lóbulos en la zona marginal: externo, medio-externo, medio, medio-interno e interno y un lóbulo paleal. En ambas zonas se identificaron fibras colágenas y musculares, no se encontraron fibras reticulares, fibras elásticas ni células de Leydig. En la zona paleal se observaron además células cafés. En general, el epitelio observado es cilíndrico simple, excepto el lado interno del lóbulo interno de *M. aurantiaca*, donde el epitelio es cúbico simple. El epitelio interno de la zona paleal de ambas especies es cilíndrico ciliado. En el área entre el lóbulo interno y el lóbulo medio-interno de *M. aurantiaca* se observaron células secretoras con basofilia intensa, concentradas en la zona subepitelial, positivas a la técnica del ácido peryódico-Schiff (reacción de PAS).

Estas células no se observaron en *M. squalida*. En los lóbulos medios de las dos especies se encontraron células secretoras basófilas de menor tamaño y más dispersas que las anteriores, que presentaron una reacción positiva intensa a la técnica de PAS en *M. aurantiaca* y ligera en *M. squalida*. Los epitelios de ambas especies son PAS positivos.

INTRODUCCIÓN

Aunque las almejas son muy apreciadas en México, su cultivo ha sido descuidado debido a la abundancia y diversidad de las especies que se encuentran en las costas mexicanas. Algunas de estas especies se han explotado intensivamente por muchos años, con poca o ninguna regulación (Baqueiro, 1989). En este caso se encuentran la almeja roja, *Megapitaria aurantiaca*, y la almeja chocolata, *M. squalida*. Estas especies se explotan comercialmente en Baja California Sur, México (Holgún, 1976) y se pueden considerar como

* Trabajo presentado en la IV Reunión Nacional de Histología, patrocinado por la Dirección de Estudios de Posgrado e Investigación del IPN.

** Becaria del Programa Institucional de Formación de Investigadores del IPN.

*** Becario de la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del IPN.

un recurso potencial, pesquero y de cultivo; sin embargo, se conoce muy poco sobre su biología y casi nada sobre su anatomía microscópica, excepto sobre la gónada que ha sido descrita por Baqueiro y Stuardo (1977).

El manto es importante porque es el órgano que forma la concha y secreta el ligamento, además de tener otras funciones tales como recibir estímulos sensoriales, ayudar a la dispersión de los huevos durante la reproducción, en el intercambio directo de gases entre los tejidos y el medio, almacenar materiales de reserva, secretar gran cantidad de mucus y ayudar a la excreción, descargando células sanguíneas con productos de desecho (Galtsoff, 1964). En general, el manto de los bivalvos presenta tres lóbulos en la zona marginal; el interno es el más grande y posee músculos circulares y radiales, el medio destaca por su función sensorial y el externo está relacionado con la formación de la concha (Beedham, 1958a; Barnes, 1986).

En varias especies de bivalvos se han efectuado estudios histológicos e histoquímicos del manto, entre los que destacan *Atrina rigida*, *Codakia orbicularis*, *Pinctada radiata* y *Venus mercenaria* (Bevelander y Benzer, 1948); *Mactra solidissima* (Love y Frommhamgen, 1953); *Anodonta cygnea* (Beedham, 1958a, 1958b; Timmermans, 1969), *Mytilus edulis* y *Ostrea edulis* (Beedham, 1958a, 1958b); *Meretrix meretrix lusoria*, *Venerupis* sp. *Corbicula japonica*, *Hyriopsis schlegelii* y *Pinctada martensii* (Tsujii, 1960); *Anodonta* spp. (Tsujii, 1960; Beedham, 1965) *Pinctada maxima* (Dix 1972a; 1972b) y *P. mazatlanica* (García-Gasca, 1992). En *Crassostrea virginica* se han efectuado estudios histológicos e histoquímicos que involucran el manto (Combs, 1959; Galtsoff, 1964; García-Domínguez, 1977; Deleón *et al.*, 1984).

Debido a la importancia del manto, se efectuó el estudio histológico de dos especies del género *Megapitaria*, con el propósito de conocer la anatomía microscópica de estos bivalvos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material biológico consistió de ejemplares adultos de *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby, 1831) y *M. squalida* (Sowerby, 1835) colectados en la isla Espíritu Santo, B.C.S., México. Para el estudio histológico del manto, las almejas se removieron de sus conchas, se extrajo el manto y se fijó en formol neutro al 10%, se aplicó el proceso convencional para incluir en parafina (Lynch *et al.*, 1972) y se efectuaron cortes de 7 μm de grosor. Por otro lado se hicieron cortes por congelación de 30 μm , éstos se tiñeron con las siguientes técnicas: hematoxilina-eosina, tricrómica de Gallego, técnica de Gallego para fibras elásticas, ácido peryódico-Schiff y doble impregnación argéntica de Rio-Hortega para fibras reticulares (Spannhof, 1966; Martoja y Martoja, 1970; Lynch *et al.*, 1972).

RESULTADOS

En ambas especies, la zona marginal del manto presenta cinco lóbulos: interno, medio-interno, medio, medio-externo y externo (Fig. 1). En *M. squalida* el epitelio de esta zona es cilíndrico simple, midiendo de 9 a 12 μm en el lóbulo interno, de 9 a 11 μm en los lóbulos medios (excepto el lóbulo medio-externo, el cual será descrito con detalle más adelante), y de 11 a 16 μm en el lóbulo externo. El surco periostracal se localizó entre el lóbulo externo y el lóbulo medio-externo, el epitelio mide de 11 a 12 μm y se

observó una secreción acidófila que corresponde al periostraco recién formado (Fig. 2). El lóbulo medio-externo es más angosto que los demás, el epitelio interno es cúbico simple y se vuelve cilíndrico conforme llega al extremo distal; el epitelio externo es cilíndrico simple con células altas (23 a 35 μm) en el surco periostracal. El epitelio interno del lóbulo interno de *M. aurantiaca* es cúbico simple, midiendo 4.5 μm , mientras que el epitelio externo es cilíndrico simple de 7 μm . El epitelio de los lóbulos medios es cilíndrico simple de 7 a 16 μm y el epitelio del lóbulo externo es cilíndrico simple de 12 a 14 μm . En la zona subepitelial localizada entre el lóbulo interno y el lóbulo medio-interno de *M. aurantiaca* se observó gran cantidad de células secretoras con basofilia intensa, que miden 10 a 14 por 13 a 17 μm , positivas a la reacción de PAS (Fig. 3). Estas células no se encontraron en *M. squalida*. Un segundo tipo celular, observado en ambas especies en el tejido subepitelial de los lóbulos medios, consistió en células basófilas de 9 a 14 por 8 a 11 μm en *M. squalida* y 10 a 15 por 13 a 20 μm en *M. aurantiaca* (Fig. 4). Estas células, que son de menor tamaño y están más dispersas que las anteriores, presentaron una reacción positiva intensa a la técnica de PAS en *M. aurantiaca* y ligera en *M. squalida*. Los epitelios de la zona marginal de ambas especies son positivos a la técnica de PAS.

El epitelio interno de la zona paleal de las dos especies es cilíndrico simple, midiendo de 11 a 19 μm de altura en *M. squalida* y 9 a 12 μm en *M. aurantiaca*. Se observó una densa ciliación en el epitelio interno de *M. squalida*. En el tejido subepitelial se observaron células secretoras con basofilia intensa, positivas a la técnica de PAS, que miden de 5 a 8 por 8 a 11 μm en *M. aurantiaca* y de 5 a 8 por 5 a 12 μm en *M. squalida*. El epitelio externo es cilíndrico simple, mide de 6 a 11 μm en *M. squalida* y de 7 a 9 μm en *M. aurantiaca*.

En ambas especies se observó un lóbulo paleal, de menor tamaño que los de la zona marginal (Fig. 5). Este lóbulo marca el inicio de la zona paleal y se encuentra situado debajo de la línea paleal de la concha. En el tejido conjuntivo de la zona paleal hay células café de 10 a 15 por 8 a 13 μm en *M. squalida* y de 7 a 14 μm en *M. aurantiaca* (Fig. 6). También se encontraron leucocitos granulares, leucocitos agranulares, fibroblastos, fibras musculares y fibras colágenas. Con las técnicas empleadas no se observaron fibras elásticas, fibras reticulares y células de Leydig.

DISCUSIÓN

El manto de *Megapitaria squalida* y *M. aurantiaca*, a diferencia de otros bivalvos como *Pinctada radiata* (Bevelander y Benzer, 1948); *Anodonta cygnea* (Beedham, 1958a; Timmermans, 1969), *Mytilus edulis* y *Ostrea edulis* (Beedham, 1958a); *Meretrix meretrix lusoria*, *Veneropsis* sp., *Corbicula japonica*, *Hyriopsis schlegelii* y *Pinctada martensii* (Tsuji, 1960); *Crassostrea virginica* (Galtsoff, 1964), *Pinctada maxima* (Dix 1972a) y *P. mazatlanica* (García-Gasca, 1992), presenta cinco lóbulos en la zona marginal.

De acuerdo a los resultados obtenidos, fue evidente que el epitelio cilíndrico localizado entre el lóbulo medio-externo y el lóbulo externo secreta el periostraco, esta zona es conocida como surco periostracal y la parte más interna es llamada "glándula periostracal", aunque es preferible referirse a ésta como "superficie epitelial secretora" (Galtsoff, 1964).

En las especies estudiadas en este trabajo, el epitelio interno del lóbulo externo y el epitelio externo del lóbulo medio-externo son morfológicamente diferentes. Beedham

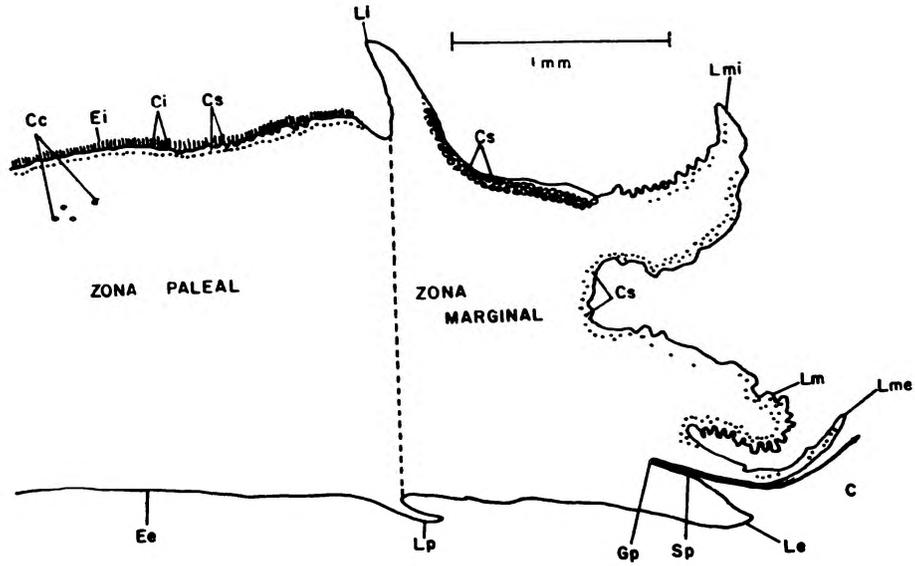


FIG. 1. Sección transversal del manto de *Megapitaria aurantiaca*. 35 \times . (Cs, células secretoras; Le, lóbulo externo; Ci, cilios, Ee, epitelio externo.)

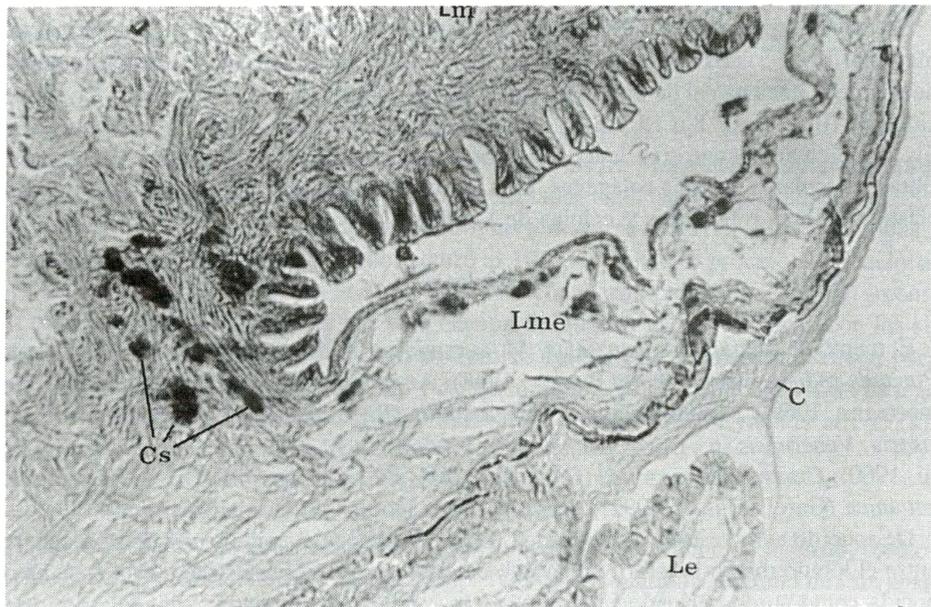


FIG. 2. Surco periostacal del manto de *Megapitaria aurantiaca*. 200 \times . Hematoxilina-eosina. (Cs, células secretoras; C, conquiolina, Le, lóbulo externo, Lme, lóbulo medio-externo; Lm, lóbulo medio.)

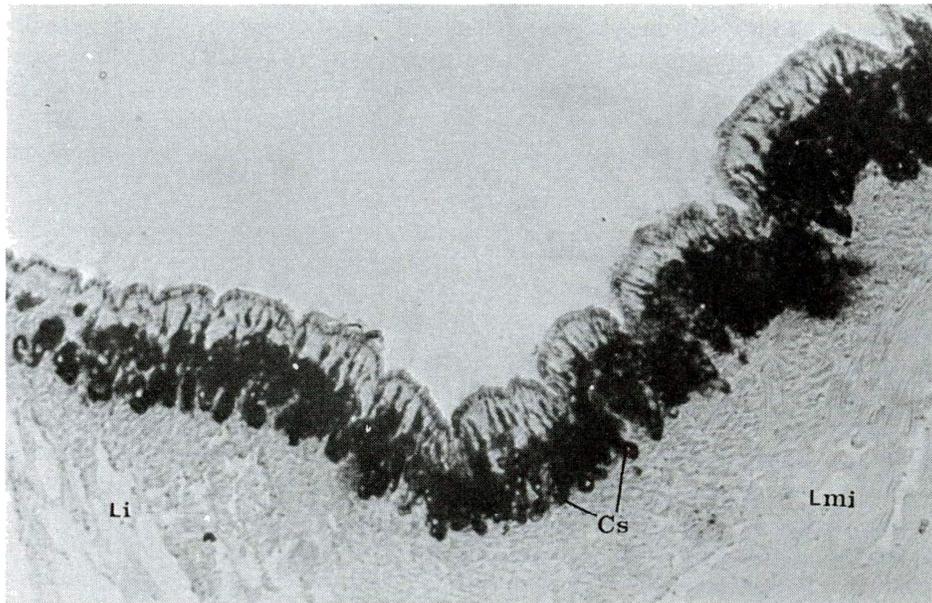


FIG. 3. Células secretoras del manto de *Megapitaria aurantiaca*. 200 ×. Hematoxilina-eosina. (Cs, células secretoras; Li, lóbulo interno; Lmi, lóbulo medio-interno.)

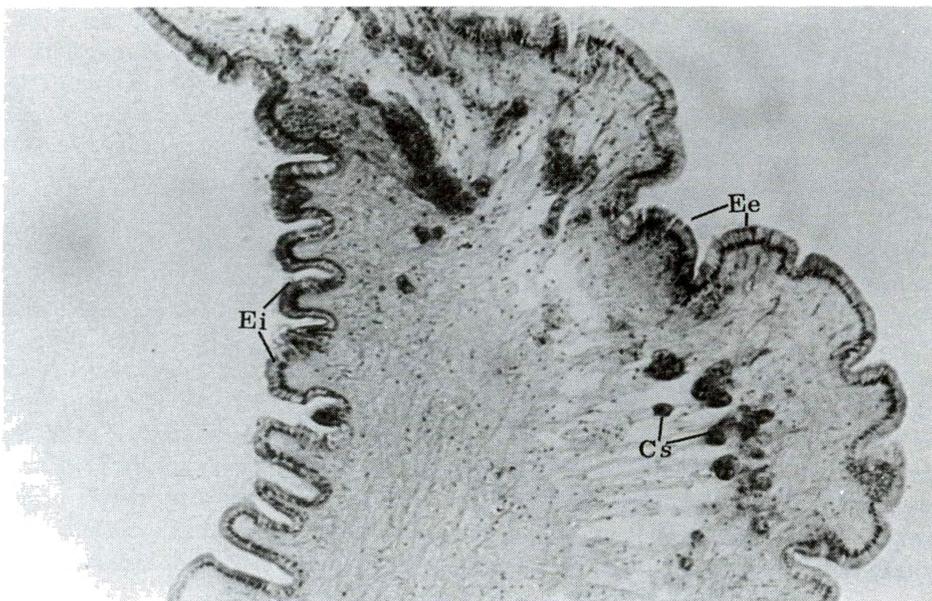


FIG. 4. Lóbulo medio del manto de *Megapitaria aurantiaca*. 200 ×. Hematoxilina-eosina. (Cs, células secretoras; Ei, epitelio interno; Ee, epitelio externo.)

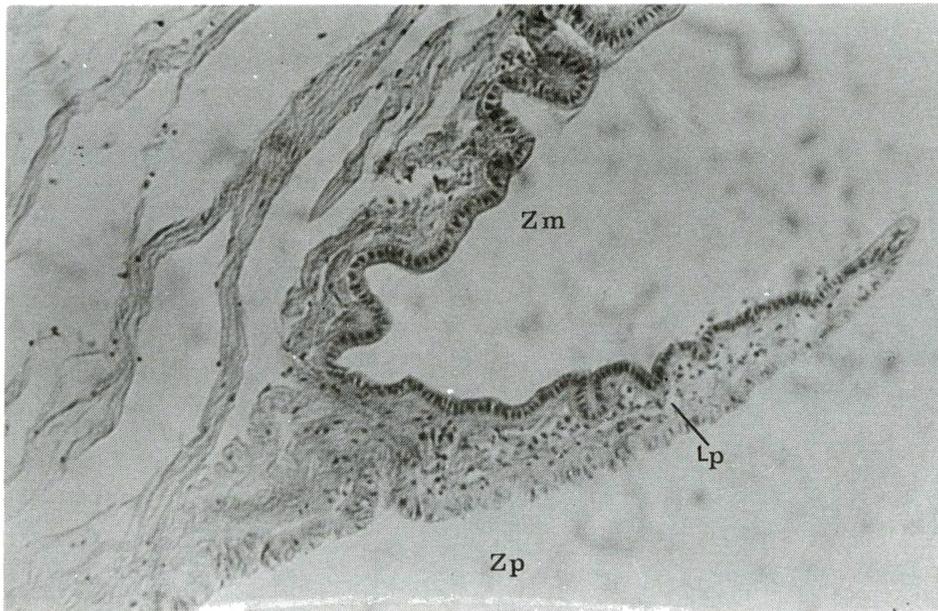


FIG. 5. Lóbulo paleal (Lp) del manto de *Megapitaria aurantiaca*. 200 \times . Hematoxilina-eosina. (Zm, zona marginal; Zp. zona paleal.)



FIG. 6. Zona paleal del manto de *Megapitaria squalida*. 200 \times . Hematoxilina-eosina (Cc, células cafés; Ei, epitelio interno; Ci, cilios.)

(1958a) y Dix (1972a) sugieren que el primero secreta el periostraco mientras que Beverlander y Benzer (1948) y Tsujii (1960) sugieren que el periostraco es secretado por el segundo. En caso de que el periostraco sea secretado únicamente por el epitelio interno del lóbulo externo, sólo las células epiteliales participan en su formación ya que el lóbulo externo no presenta células secretoras subepiteliales.

Las células secretoras, observadas en los lóbulos medios de ambas especies, PAS positivas, probablemente participan en la formación de mucus; células similares fueron encontradas en *Venerupsis* sp. (Tsujii, 1960). Los epitelios tanto de *M. squalida* como de *M. aurantiaca* presentaron una reacción positiva intensa a la técnica de PAS indicando la participación de las células epiteliales en la formación de los carbohidratos que forman parte del periostraco. No se observaron células secretoras acidófilas ni células de aspecto globular, con basofilia ligera como en *Pinctada martensii* (Tsujii, 1960), *P. maxima* (Dix, 1972a, 1972b) y *P. mazatlanica* (García-Gasca, 1992). Las diferencias morfológicas y celulares marcan la posibilidad de que las conchas de *Pinctada* y *Megapitaria* tengan diferente composición química y el mecanismo de formación de las mismas se lleve a cabo de diferente manera, ya que en la primera la concha posee una capa interna de nácar y un periostraco bien desarrollado, mientras que la segunda no secreta nácar y el periostraco es considerablemente más delgado. En *M. aurantiaca* se observaron células secretoras con basofilia intensa, PAS positivas, entre el lóbulo interno y el lóbulo medio-interno; probablemente estas células participen en la formación de mucus.

El epitelio externo del lóbulo externo secreta la capa calcárea externa de la concha (Tsujii, 1960; Dix, 1972a). En *Megapitaria*, este epitelio fue positivo a la técnica de PAS y no presenta células secretoras en el tejido subepitelial.

En el epitelio externo de la zona paleal no se observan células secretoras mientras que las células epiteliales son PAS negativas. Este epitelio forma la capa calcárea interna (Dix, 1972a). Su morfología es diferente a la del epitelio interno, el cual presenta células secretoras altamente basófilas, PAS positivas en el tejido subepitelial. En ambas especies este epitelio es ciliado.

En las dos especies se observa un lóbulo, del lado externo de menor tamaño que los de la zona marginal (lóbulo paleal). Este lóbulo marca el inicio de la zona paleal, con un cambio en las características del epitelio en su extremo distal, hacia la zona marginal es PAS positivo y mide 7 μm de altura en *M. aurantiaca* y de 7 a 9 μm en *M. squalida*. En la zona paleal el epitelio es PAS negativo, en *M. aurantiaca* mide de 7 a 9 μm y de 6 a 11 en *M. squalida*.

En el tejido conjuntivo del manto, se evidenciaron fibras colágenas mediante las técnicas tricrómicas de Gallego e impregnación argéntica, mientras que la técnica de Gallego para fibras elásticas indicó la ausencia de estas fibras, coincidiendo con lo observado en *Crassostrea virginica* por García-Domínguez (1977) y Deleón et al. (1984); sin embargo, Galtsoff (1964) menciona la presencia de fibras elásticas en el tejido conjuntivo de esta misma especie. Las fibras reticulares no fueron evidentes con la impregnación argéntica ni con la técnica de PAS, al igual que en *Pinctada mazatlanica*, descrita por García-Gasca (1992).

En ambas zonas del manto se observaron leucocitos granulares, leucocitos agranulares y fibroblastos, mientras que las células café sólo se observaron en la zona paleal. No se advirtieron células de Leydig en ninguna de las dos especies estudiadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Dirección de Estudios de Posgrado e Investigación del IPN, que por medio del proyecto "Estudio de poblaciones de moluscos de importancia económica", clave 880604, proporcionó los medios que permitieron realizar este trabajo y al señor Jorge Romero Castillo por el apoyo recibido y la elaboración de los cortes por congelación.

SUMMARY

The normal histology of the marginal and paleal zones of the mantle of two clam species with importance as a fishery and the potential to be cultured is described. Both species have five folds in the marginal zone (outer fold, middle-outer fold, middle fold, middle-inner fold, and inner fold) and one fold in the paleal zone (paleal fold). Collagen and muscular fibers were found in both marginal and paleal zones. No reticular fibers, elastic fibers, or Leydig cells were found. In the paleal zone, there were brown cells. Epithelia are columnar, except for the inner epithelium of the inner fold of *M. aurantiaca*, which is cubic. The inner epithelium of the paleal zone of both species is ciliated columnar. In the subepithelial zone, between the inner fold and the middle-inner fold of *M. aurantiaca*, there were basophilic secretory cells, PAS positive. These cells were not observed in *M. squalida*. In the middle folds of both species there were found small basophilic secretory cells. These had intense positive reaction to the PAS technique in *M. aurantiaca* and a weak reaction in *M. squalida*. Epithelia of both species were positive to the PAS technique.

BIBLIOGRAFÍA

- BAQUEIRO, E. Y J. STUARDO, 1977. Observaciones sobre la biología, ecología y explotación de *Megapitaria aurantiaca* (Sow., 1835), *M. squalida* (Sow., 1835) y *Dosinia ponderosa* (Gray, 1838) (Bivalvia: Veneridae) de la bahía de Zihuatanejo e isla Ixtapa, Gro., México. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México.*, 4 (1): 161-208.
- BAQUEIRO, E.C., 1989. Clam culture in México: Past, present and future. En: J.J. Manzi and M. Castagna (eds). *Clam Mariculture in North America*. Elsevier Sci. Pub. Amsterdam. 383-394 pp.
- BARNES, R.D., 1986. *Zoología de los Invertebrados*. 4a. ed. Interamericana. México. 1157 pp.
- BEEDHAM, G.E. 1958a. Observations on the mantle of the Lamellibranchia. *Quart. J. of Microsc. Sci.*, 99: 181-197.
- _____, 1958b. Observations of the non-calcareous component of the shell of the Lamellibranchia. *Quart. J. micr. Sci.*, 99: 341-352.
- _____, 1965. Repair of the shell in species of *Anodonta*. *Proc. Zool. Soc. London.*, 145: 107-125.
- BEVELANDER, G. AND P. BENZER, 1948. Calcification in marine molluscs. *Biol. Bull.*, 94: 176-183.
- COMBS, R.M., 1959. Cytology of glycogen and lipid storage in the pallium of *Crassostrea virginica*. *J. Morphol.*, 105 (2): 367-382.
- DELEÓN, R.I.; A.J. PÉREZ-ZAPATA Y F. GARCÍA-DOMÍNGUEZ, 1984. Descripción morfológica y análisis citoquímico del tejido conjuntivo de *Crassostrea virginica* (Gmelin). *An. Esc. Nac. Cienc. Biol., Méx.*, 28: 183-191.
- DIX, T.G., 1972a. Histology of the mantle and pearl sac of the oyster *Pinctada maxima* (Lamellibranchia). *J. Malac. Soc.*, 2: 365-375.

- DIX, T.G., 1972b. Histochemistry of the mantle and pearl sac secretory cells in *Pinctada maxima* (Lamellibranchia). *Aust. J. Zool.*, **20**: 359-368.
- GALTSOFF, P.S., 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fish. Bull.*, **64**: 1-479.
- GARCÍA-DOMÍNGUEZ, F., 1977. Estudio histológico e histoquímico del tejido conjuntivo del ostión *Crassostrea virginica* (Gmelin). Tesis de licenciatura. ENCB-IPN. 65 pp.
- GARCÍA-GASCA, S.A., 1992. Estudio morfológico y análisis citoquímico del manto de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) en relación a la formación de nácar. Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. 91 pp.
- HOLGUÍN, Q.O., 1976. *Catálogo de especies marinas de importancia comercial en Baja California Sur*. Subs. Pesca. México. Inst. Nal. de Pesca. 177 pp.
- LOVE Y FROMMHAGEN, 1953. Histochemical Studies on the clam *Macra solidissima*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **83**: 838-844.
- LYNCH, M. J.; S.S. RAPHAEL; L. D. MELLOR; P. D. SPARE AND M. J. INWOOD, 1972. *Métodos de laboratorio*. Interamericana. México., 1522 pp.
- MARTOJA, R. Y M. MARTOJA, 1970. *Técnicas de histología animal*. Toray Masson. Barcelona. 350 pp.
- SPANNHOF, L. 1966. *Histoquímica práctica*. Acribia. Zaragoza. 195 pp.
- TIMMERMANS, L., 1969. Studie on shell formation in molluscs. *Netherlands J. Zool.*, **19**: (4): 417-523.
- TSUJII, T., 1960. Studies on the mechanism of shell and pearl formation in mollusca. *J. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie-Tsu*, **5**: 1-70.