

Revista de zoología
Universidad Nacional Autónoma de México
tizoc@correo.unam.mx
ISSN (Versión impresa): 0188-1884
MÉXICO

2006
R. T. Paredes / P.L. Rivera / E.H. Barrera / C.P. Villeda
MADURACIÓN TESTICULAR E HISTOLOGIA DE HAEMOPIS SP. (ANNELIDA:
HIRUDINIDAE)
Revista de zoología, número 017
Universidad Nacional Autónoma de México
Tlalnepantla, México
pp. 1-8

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Universidad Autónoma del Estado de México

<http://redalyc.uaemex.mx>



Maduración testicular e histología de *Haemopsis* sp. (Annelida:Hirudinidae).

*Paredes R. T., *Rivera, P.L.,* Barrera E.H. y **Villeda C.P.

*FESI UNAM. Laboratorios de Microscopía Óptica, Biología Celular, y **Diversidad Animal I. FES Iztacala, Av. De los Barrios #1 Apdo.314 Tlalnepantla Edo. De Méx. C. P. 54090.

RESUMEN.

Se realizó un estudio histológico del testículo de la sanguijuela *Haemopsis* sp. los ejemplares se obtuvieron del mercado de Jamaica, Cd. de México. Se extrajeron las gónadas masculinas y fueron fijadas en formaldehído al 4%, para su tratamiento con Técnica Histológica por inclusión en parafina, se realizaron cortes con un espesor de 8 micras, que fueron teñidos con Hematoxilina y Eosina. Las muestras procesadas fueron analizadas con un microscopio óptico Motic Mod. BI-223, a 10, 40 y 100 X, después se fotografiaron con una cámara Moticam 2000. Los resultados muestran 4 diferentes estadios de las células germinales, que corresponden a las espermatogonias, las cuales son células originadas a partir del epitelio germinal del testisaco y que se dividen mitóticamente originando un clon o grupo isogénico (poliplasto), para dar origen a los espermatoцитos primarios; estos sufren una división meiótica reductiva, dando lugar a los espermatoцитos secundarios y a las espermátidas, la serie germinal culmina con la formación de espermatozoides flagelados, los cuales se encuentran distribuidos en la periferia del citóforo.

Palabras Clave: *Haemopsis*, Annelida, Hirudinidae, espermatogénesis, maduración testicular.

ABSTRACT

A histological study of the leeches *Haemopsis* sp. Testicles was made, samples were obtained from the Jamaica Market in Mexico City. Male gonads were dissected and fixed in formalin at 4% dilution. For paraffin inclusion histological technique, specimens were cut in 8um thick sections and subsequently stained with haematoxylin and eosin. Specimens microscopic analysis was performed with a Motic optical microscope (BI-233) at 4X 10X and 100X magnifications. The samples were photographed with a Moticam 2000 Digital camera, digitalized files for detailed architectural analysis. Results show germinal cells in four different stages. Spermatogonial cells, originated from testisac's germinal epithelial cells, which divide mitotically creating clones or isogenic groups calling polyplast that, originate primary spermatocytes. These cells undergo a reductive meiotic division, developing secondary spermatocytes and spermatids. The germinal streak finishes with the formation of flagellated spermatozoids, located at the cytophore's periphery.

Key Words: *Haemopsis*, Annelida, Hirudinidae, spermatogenesis, testicular development.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los diferentes diagnósticos morfológicos de sanguijuelas, el sistema reproductor ha sido particularmente importante en su taxonomía y filogenia (Siddall *et al*, 2005). La morfología espermática y la espermatogénesis son factores básicos en el estudio de la biología reproductiva de las sanguijuelas (Bonet y Molinas, 1988).

Las sanguijuelas son organismos hermafroditas protándricos, con gónadas que maduran a diferentes tiempos (Vera *et al*, 2005). El sistema reproductor masculino se compone de estructuras pareadas, generalmente de 4 a 6 pares de testículos, cada uno conectado a un conducto eferente que abre dentro de un vaso deferente. Algunas especies por ejemplo las pertenecientes al género *Haemopsis* se caracterizan por la presencia de un bulbo eyaculador, epidídimo y un pene (Fox, 2003).

La espermatogénesis es un proceso de formación de los gametos masculinos, que se desarrollan en el testículo, las dos divisiones meióticas ocurren previas a la espermiogénesis, durante la cual se inducen los profundos cambios en la diferenciación celular con pérdida de la mayor parte del citoplasma y organelos, por medio de vesículas de secreción, la condensación de la cromatina nuclear, la aparición del acrosoma y el desarrollo del flagelo (Marina, 2003).

El proceso de espermatogénesis ha sido estudiado en diferentes especies de sanguijuelas, *Hirudo medicinalis*, (Nekhaev, 1959); *Glossiphonia complanata* (Damas, 1968); *Dina lineada* (Bonet and Molinas, 1988); *Piscicola geometra* (Malecha, 1975). El proceso de producción de espermatozoides es muy

similar en otras especies de sanguijuelas (Fernández *et al*, 1992).

En este trabajo se planteo como objetivo, realizar un estudio histológico de las gónadas de *Haemopsis* sp., para describir y analizar el proceso de espermatogénesis.

METODOLOGÍA

Las sanguijuelas fueron obtenidas del mercado de Jamaica, Cd. de México. A los ejemplares obtenidos se les extrajo las gónadas masculinas, y se fijaron con formaldehído al 4% durante 24 horas, posteriormente se lavaron en agua, para después deshidratarlas con etanol al 80%, 95% y 100% con cambios de dos horas cada uno.

Las muestras se aclararon con Xilol y cloroformo para su impregnación en dos cambios de parafina a 60° C. Se incluyeron en bloques de parafina y se obtuvieron cortes al microtomo de 8 micras (American Optical Instrument), los cortes se colocaron en portaobjetos y se extendieron por medio de etanol al 30%, después se dejaron flotar en un recipiente con agua y gelatina al 5% a 45°C (Amenta, 1983).

Para desparafinar los cortes, se realizaron dos cambios en Xilol durante 2 minutos cada uno, y se rehidrataron en alcoholes graduales. Para la tinción de los cortes se sumergieron en hematoxilina de Harris por 20 minutos, se lavaron en agua por 2 minutos, para llevarlos a alcohol ácido de 1 a 5 cambios, se lavaron en agua, y se pasaron en agua amoniacal de 1 a 3 cambios, después se tiñeron con Eosina durante dos minutos, se deshidrataron en alcoholes graduales hasta llegar al Xilol y finalmente se montaron con resina sintética (Luna, 1958). Las muestras se observaron por medio de un microscopio

óptico Motic Mod. BI-223, a los siguientes intervalos de 10, 40 y 100 X, después se fotografiaron con una cámara Moticam 2000, en una computadora HP Compaq.

RESULTADOS

La determinación del género *Haemopsis* sp., se llevó a cabo mediante las claves de identificación de Thorp y Covich (2001), Fox (2003), Sawyer (1986) y Sidall (2001, 2005).

Haemopsis sp. presentó cinco pares de ojos negros, en la parte anterior dorsal del cuerpo. El gonoporo masculino (aprox. metámero 11) es anterior al femenino (metámero 12); el ano se encontró en la línea media dorsal inmediatamente anterior a la ventosa posterior.

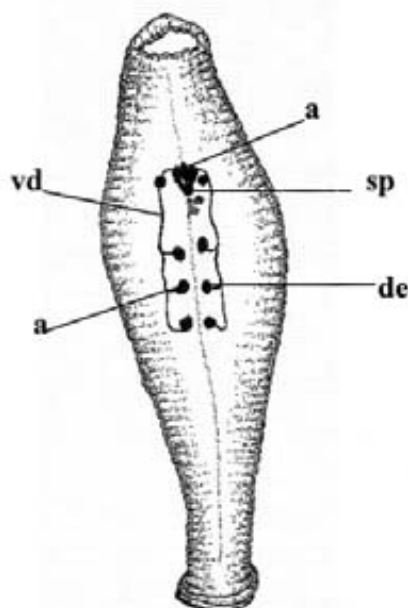
Morfología y análisis histológico del testículo.

Haemopsis sp. presenta cuatro pares de testisacos de color café claro, situados del lado izquierdo y derecho del cuerpo, empezando por la parte posterior del gonoporo y terminando hacia la parte final del organismo.

Los testisacos se encuentran revestidos por un epitelio simple que se apoya sobre la membrana basal, el epitelio se halla formado por dos tipos de células de revestimiento: las células planas mesoteliales, que forman una capa continua y las células cúbicas epiteliales que se hacen más numerosas a medida que avanza el proceso de la espermatogénesis, y se dividen por mitosis para formar fagocitos (Fig. 1 y 2).

Los fagocitos son células ovoides que presentan una talla mayor a todos los elementos goniales y se encuentran distribuidos en todo el tejido gonádico, aparecen generalmente cuando los espermatozoides son liberados y el citóforo empieza a degenerar y estas células

absorben los compuestos orgánicos restantes.

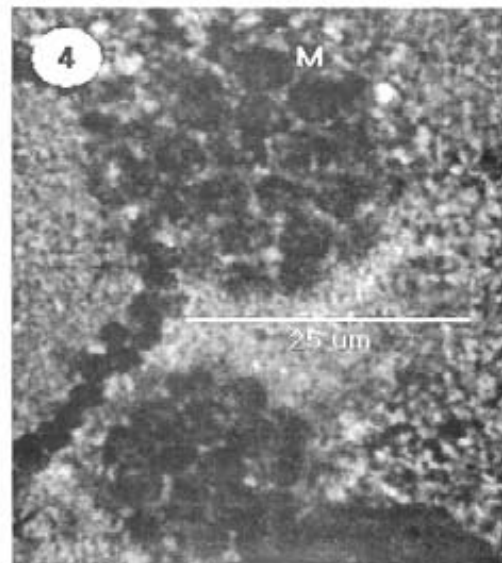
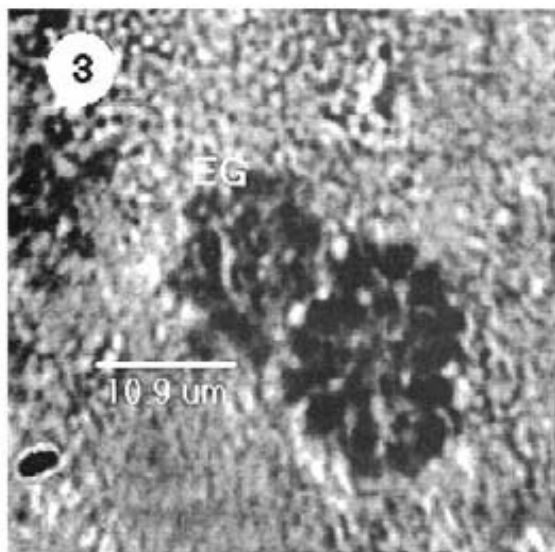
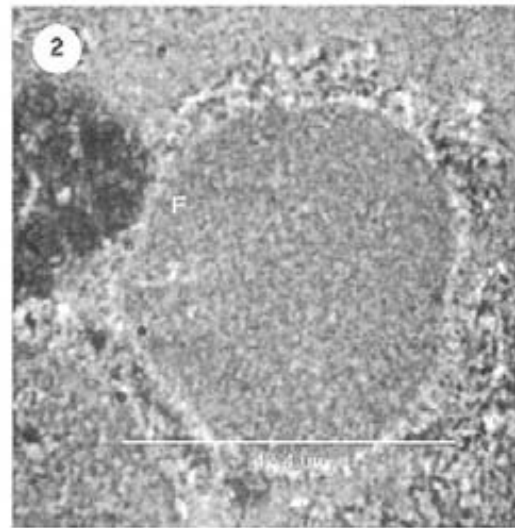
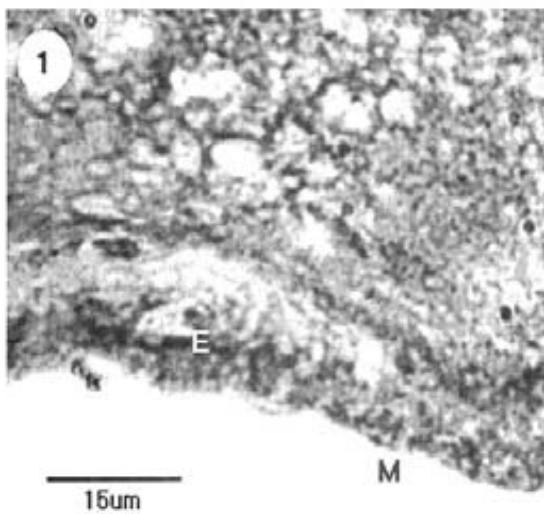


Esquema 1. Vista ventral de un adulto de *Haemopsis* sp. En donde se muestran los testisacos, (t); los ductos eferentes, (de); los vasos deferentes, (vd); el atrio, (a); y el saco del pene, (sp).

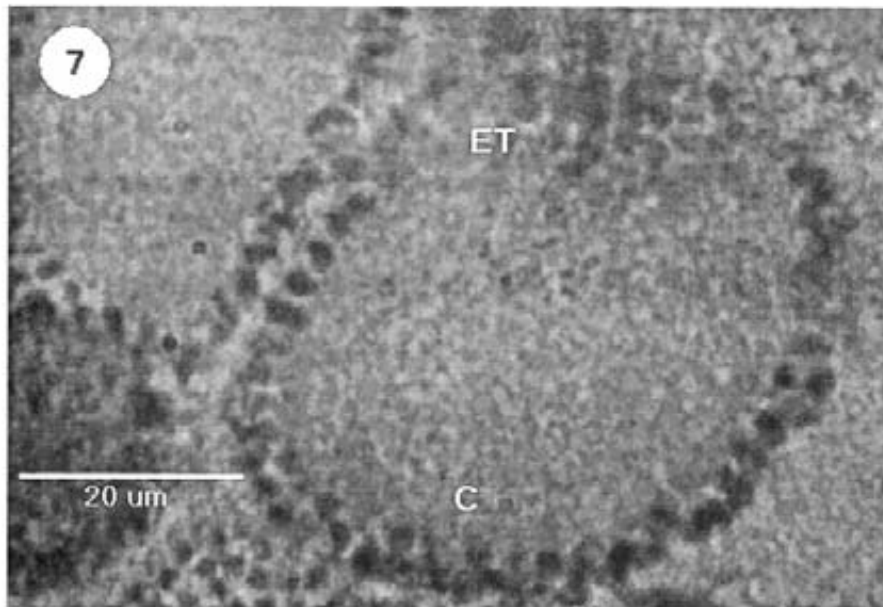
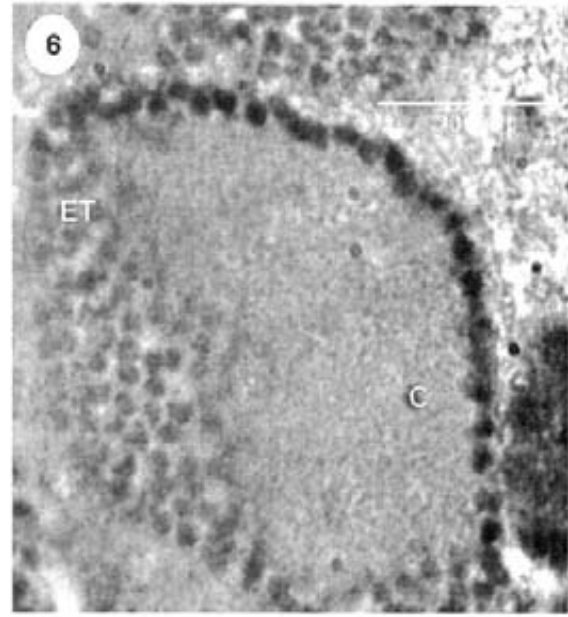
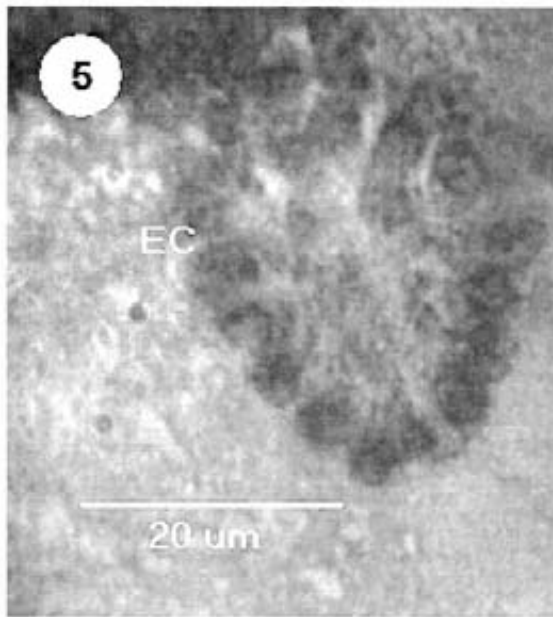
Se lograron distinguir cuatro diferentes etapas de la espermatogénesis: la etapa 1 inicia con la proliferación de espermatogonias, que son células redondeadas con núcleos conspicuos, originadas a partir del epitelio germinal del testisaco. Cada espermatogonia se divide varias veces mitóticamente sin separarse para producir el poliplasto que consiste de una especie de mórula de células unidas a la parte central de una masa carente de núcleos denominada citóforo que tiene afinidad por la eosina; estas divisiones ocurren sin citodiéresis, por lo que éstas células quedan unidas al citóforo que en ésta etapa se encuentra reducido (Fig. 3); en la etapa 2 los espermatoцитos (Fig. 4 y 5), que están en división meiótica, presentan un núcleo con una mayor condensación cromatínica; el citóforo se observa más granular y aumenta su volumen, posteriormente sufren una división

reductiva para formar espermatocitos secundarios; en la etapa 3 los espermatocitos sufren la segunda división meiótica originando a las espermátidas (Fig. 6 y 7), en éstas células la cromatina se encuentra aún más condensada, el volumen del citóforo se estabiliza, y la serie germinal finaliza con la formación del flagelo, a partir del axonema, para dar origen a los espermatozoides (Fig. 8); en la etapa 4

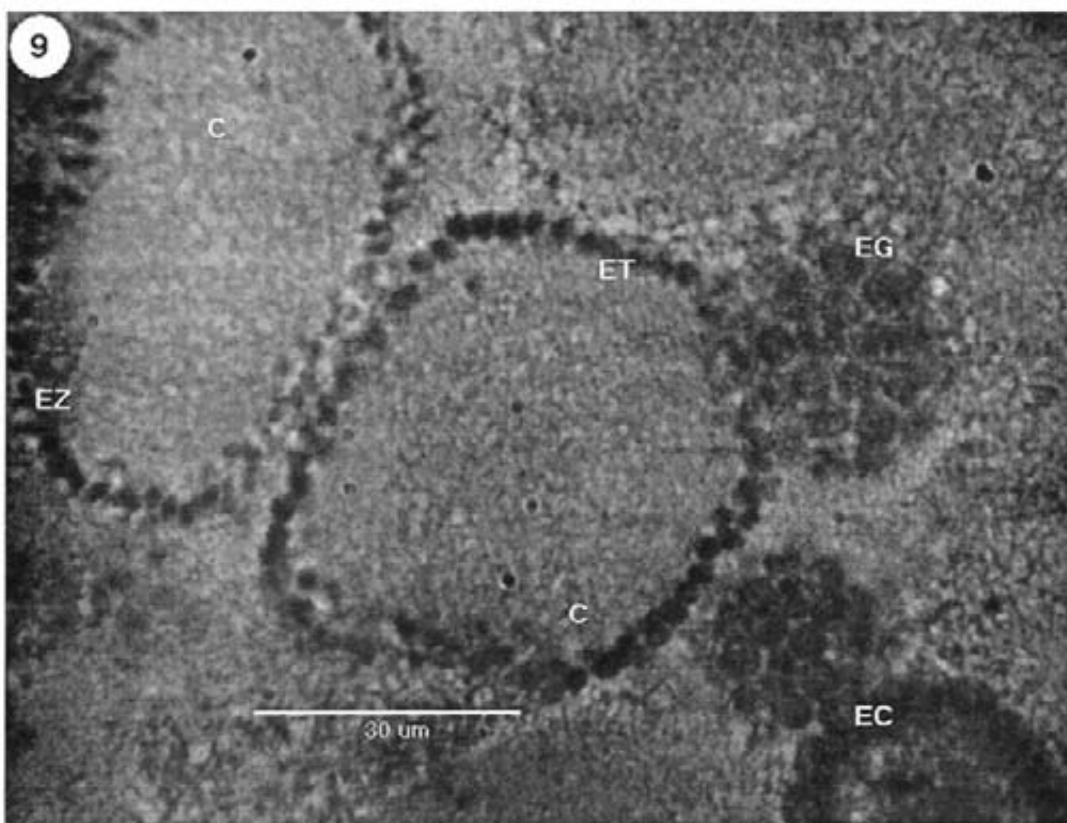
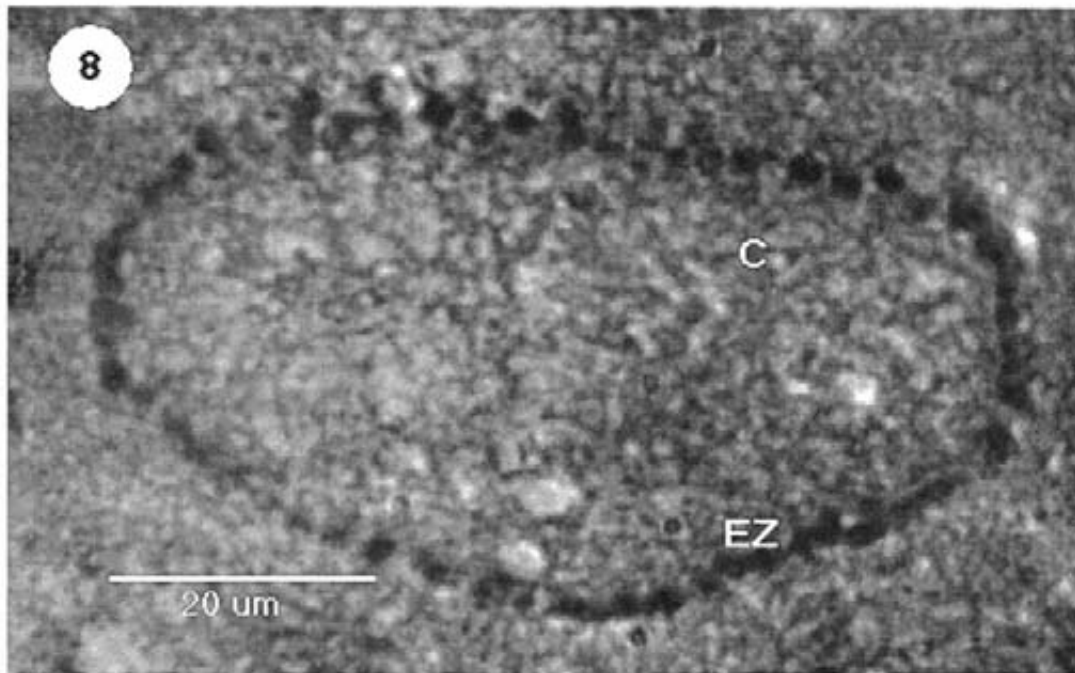
ocurre la espermiogénesis y los espermatozoides se orientan con sus acrosomas todavía vinculados con el citóforo, la cromatina alcanza su máximo grado de condensación y las células con mayor diferenciación adoptan una forma muy pequeña y se ubican en la periferia. El citóforo experimenta un proceso de reabsorción directa, con la liberación de los espermatozoides a la luz del testisaco.



Figs. 1-4. *Haemopsis* sp. (100 X). 1. Corte transversal de la pared del testisaco, se observa la membrana basal (M) y las células del epitelio cúbico (E). 2. Fagocito (F) en el lumen testicular. 3. Espermatogonias (EG), originadas a partir del epitelio germinal del testisaco. 4. División mitótica (M) de espermatogonias.



Figs. 5-7. *Haemopsis* sp. (100 X). 5. Espermatocitos primarios (EC), las células presentan los núcleos orientados hacia la periferia. 6 y 7. Espermatidas (ET), Citóforo (C).



Figs. 8 y 9. *Haemopsis* sp. (100 X). 8, Espermatozoides en fase terminal (EZ) a la luz del testisaco, Citóforo (C). 9, Espermatogonias (EG), Espermatocitos primarios (EC), Espermátidas (ET), Espermatozoides (EZ), Citóforo (C).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados concuerdan con lo reportado por Gullo, (2004), quien considera que la espermatogénesis en *Helobdella hyalina*, puede ser descrita en cinco etapas: proliferación de elementos goniales, espermatoцитos en profase de la primera división meiótica, presencia de espermátidas que culmina con la formación del flagelo; espermatozoides orientados con sus acrosomas vinculados con el citóforo y su flagelo opuesto a él; y finalmente la reabsorción por acción de los fagocitos.

Por otra parte Bonett y Molinas, (1988). Reportan en *Dina lineata*, el proceso de espermatogénesis, indicando que las espermatogonias se dividen y forman un poliplasto de 512 células espermáticas. También describen que durante la espermiogénesis, las etapas secuenciales, pueden ser distinguidas por la elongación del flagelo; migración recíproca de las mitocondrias y aparato de Golgi; condensación de la cromatina y formación del acrosoma posterior; espiralización de la región nuclear y mitocondrial, y finalmente la formación del acrosoma anterior.

Se considera que la etapa transitoria de espermatoцитos primarios a secundarios es efímera, por lo que no fue posible describir a dichas células, además la falta de identificación de algunas otras estructuras se atribuye a que la microscopía óptica no permite observar ultraestructura.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que la gónada de *Haemopsis sp.* se encuentra en un estado maduro, ya que fue posible observar los cuatro estadios celulares, que constituyen el proceso de espermatogénesis, es decir espermatogonias, espermatoцитos primarios, espermátidas y espermatozoides.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los laboratorios de microscopía óptica de la FES- Iztacala el apoyo brindado para la realización de este trabajo

LITERATURA CITADA

Amenta, P. S. 1983. Manual de Histología y Embriología. Editorial Interamericana. México DF. Pp 253

Bonett, S. y Molinas, M. 1988. Ultrastructure of the Sperm and Spermatogenesis and Spermiogenesis of *Dina lineata* (Hirudinea, Erpobdellidae). Gamete Research 19:177-190.

Damas, D. 1968. Les cellules germinales males de *Glossiphonia complanata* L. (Hirudinée, Rhynchobdelle) Origine, évolution et structure . Bull. Soc. Zool. Fr. 93: 375-385

Fernández, J.V., Téllez, V. y Olea, N. 1992. Hirudinea, in Harrison, F.W., Gardiner, S.L. (eds.). Microscopic Anatomy of Invertebrates vol. 7. Annelida. Wiley-Lis USA, New York. 324-394 pp.

Fox, R. 2003. Invertebrate Anatomic Online *Haemopsis marmorata* and *Hirudo medicinalis*. Invertebrate Zoology Laboratory Exercises. Lander University. 1-19.

Gullo, S.B. 2004. Histology of the male reproductive system of *Helobdella hyalina* (Hirudinea, Glossiphoniidae) in Argentina. Iheringia. Sér. Zool. Facultad de Ciencias naturales y Museo (UNLP). Universidad Nacional De la Plata. Argentina. 94 (1).

Luna, L.G. 1968. Manual of histologic staining methods of the armed forces. Institute of Pathology. 3 ed. Blakiston. New York. 258 pp.

- Malecha, J.** 1975. Etude ultrastructurale de la spermiogenèse de *Piscicola geometra* L. (Hirudinee Rhynchobdelle). J. Ultrastruc. Res. 51:188-203.
- Marina, S.** 2003. Avances en el procedimiento de la espermatogénesis. Implicaciones clínicas. Vol. 20. No. 4. Instituto de reproducción, Barcelona, España
- Nekhaev, V.M.** 1959. Annual Developmental cycle of testes of the leeches *Hirudo medicinalis*. L. and *Haemopsis sanguisuga* Bergm.. J. Zool Zh.38:280-282
- Sawyer, R.T.** 1986. Key to the Freshwater leeches of México and Central America. 5 p.
- Siddall, E.M.** 2001. Hirudinea from the Apolobamba in the Bolivian Andes, Including Three New Species of *Helobdella* (Clitellata: Hirudinea). American Museum Novitates: No. 3341, 1-14 pp.
- Siddall, E.M., Bely, A. y Borda E.** 2005. Hirudinida. American Museum of Natural History. USA. 1-23
- Thorp, H.J. y Covich, P.A.** 2001. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press. New York. 475-504 pp.
- Vera, .K.C., Blu, F.A. y Torres, H.M.** 2005. Leeches, today and yesterday present parasites. Rev. Chil. Infect. 22(1):32-37.

Fecha de Recepción: 3 de Abril del 2006.

Fecha de Aceptación: 29 de Mayo del 2006.