# Anatomía del sistema reproductor femenino y masculino de Sinum cymba (Menke, 1828) (Gastropoda: Naticidae)

Anatomy of the female and male reproductive system of *Sinum cymba* (Menke, 1828) (Gastropoda: Naticidae)

### Alejandra A. Covarrubias<sup>1\*</sup> y María Soledad Romero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Casilla 117, Coquimbo, Chile \*acp008@ucn.cl

Abstract. - A description of the reproductive system of Sinum cymba, gastropod Naticidae is revealed by optical and electronic microscopy. The anatomy of the females and males reproductive system agrees with descriptions for other members of this family. The female reproductive system is formed by a gonopore, the oviduct, a bursa copulatrix, a seminal receptacle, the capsule gland, the albumen gland and the ovary. The female can store sperm in the seminal receptacle. Sexual dimorphism the foot was determined. In opposition of what was expected, no signals of imposex were observed. The male reproductive system is formed by the penis which contains the vas deferens and a gland, the seminal vesicle and the testicle. The organization of germinal cells in males of S. cymba differs from the pattern described for most of the marine gastropod species and it is characterized by the occurrence of cells closely adhered to the walls of the seminiferous tubules in some of the stages of the spermatogenesis. This intratubular distribution is homogenous in all tubules of the gonad and constant through the year. This pattern of intratubular distribution would be an indicator of a continuous gametogenic cycle type for this group of gastropod.

Key words: Naticids, reproduction, gonadal organization, pedal ovipositor

# Introducción

La clasificación de los moluscos gasterópodos ha sido revisada en las últimas décadas y se han propuesto nuevos reordenamientos utilizando caracteres morfológicos y moleculares (Haszprunar 1988, Ponder & Lindberg 1996, Ponder *et al.* 2008). Dentro del superorden Caenogastropoda, las características del sistema reproductivo son variadas y se han considerado herramientas útiles en la clasificación actual, sin embargo, mientras algunos grupos han recibido mucha atención (Ponder 1984, Kool 1988, 1993a, b, Reid 1989, Simone 2006), otros tales como Naticidae han sido estudiados **Resumen**.- Se realiza una descripción mediante microscopía óptica y electrónica del sistema reproductor de Sinum cymba, gasterópodo Naticidae. La anatomía del sistema reproductor de hembras y machos coincide con el patrón descrito en la literatura para otros miembros de esta familia. El sistema reproductor femenino está formado por un gonoporo, oviducto, bursa copulatrix, receptáculo seminal, glándula de la cápsula, glándula de la albúmina y ovario. Las hembras poseen la capacidad de almacenar espermatozoides en el receptáculo seminal. Se determinó dimorfismo sexual del pie. Contrario a lo esperado, no se registró imposex. El sistema reproductor masculino está formado por el pene que contiene el vaso deferente y una región glandular, la vesícula seminal y el testículo. La organización de las células germinales en los machos de S. cymba difiere del patrón descrito para la mayoría de las especies de gasterópodos marinos y se caracteriza por la ocurrencia de grupos de células estrechamente adheridos a las paredes de los túbulos seminíferos en alguna de las etapas de la espermatogénesis. Esta organización es homogénea en todos los túbulos de la gónada y constante a través del año. Esta distribución intratubular sería un indicador de ciclos gametogénicos de tipo continuo para este grupo de gasterópodos.

Palabras clave: Natícidos, reproducción, organización gonadal, ovipositor pedal

escasamente. Ziegelmeier (1961) realizó una descripción macroscópica del sistema reproductor de *Lunatia nitida* determinando dimorfismo sexual por la presencia de pene. El aspecto histológico de la gónada se ha descrito en estudios de ciclo reproductivo en *Glossaulax didyma*, estableciéndose una organización en túbulos y gametogénesis centrípeta (Kim *et al.* 2006, 2007). También se ha informado sobre anomalías del sistema reproductor de un natícido. En *Neverita didyma*, se ha informado la ocurrencia de imposex, es decir el desarrollo de pene en las hembras inducido por tributilestaño (Horiguchi *et al.* 1997, Horiguchi *et al.* 2001). En Chile se ha registrado la ocurrencia de 28 miembros de la Familia Naticidae incluyendo tres representantes del género *Sinum: S. praetenius* (Couthoy, 1852), *S. antarcticus* (Couthoy, 1852) y *S. cymba* (Menke, 1828). Esta última es una de las especies de mayor tamaño dentro de la familia Naticidae (Keen 1971) y posee un amplio rango de distribución, desde el Ecuador hasta Valparaíso, Chile (Keen 1971, Ramírez 1987, Álamo & Valdivieso 1987, Lancellotti & Vásquez 2000). La información sobre su biología reproductiva se limita a tres aspectos: la forma de las oviposturas, el modo de desarrollo y el ciclo reproductivo (Rodríguez 1997, Romero *et al.* 2003).

El objetivo de este estudio es describir la anatomía del sistema reproductivo de *Sinum cymba* a nivel macroscópico e histológico, comparando estos caracteres con grupos relacionados en la actual clasificación de Caenogastropoda.

# Material y métodos

Para describir el sistema reproductor de machos y hembras de S. cymba, se recolectaron mediante buceo apnea, 31 machos y 21 hembras desde la bahía La Herradura, Coquimbo (29°58'S; 71° 22'W). Debido a su bajo número y hábitos nocturnos, los ejemplares se recolectaron esporádicamente, en noviembre y diciembre de 2006, enero, marzo, abril, julio, octubre y noviembre de 2007, abril de 2008 y julio de 2009. Una vez en el laboratorio, los ejemplares se dejaron en seco por 20 minutos y luego se registró el peso húmedo, la altura máxima, la abertura peristomal, y en el caso de los machos la longitud del pene (Tabla 1). De cada ejemplar se extrajeron dos muestras de aproximadamente 0,5 cm<sup>3</sup> de tejido gonadal y otras partes del aparato reproductor, las que fueron fijadas con solución de Davidson's (Shaw & Battle 1957), para histología, y con glutaraldehído al 2% en buffer cacodilato 0,1 M (Turner & Boyle 1975), para

#### Tabla 1

### Datos morfométricos de machos y hembras de *Sinum cymba*

Morphometric dates of males and females of *Sinum cymba* 

Temales of Sinam Cymou		
Atributo	Machos ( $n = 31$ )	Hembras (n = 20)
Peso húmedo (g)	287,35 ± 36,29	367,09 ± 59,53
Abertura peristomal (mm)	$31,82 \pm 1,52$	$35,54 \pm 2,48$
Altura máxima (mm)	$46,68 \pm 3,045$	$53,58 \pm 3,13$
Longitud del pene (mm)	$17,\!60 \pm 2,\!67^*$	

\* 17 ejemplares medidos

microscopía electrónica. La preparación de las muestras histológicas se basó en el protocolo descrito por Martoja & Martoja-Pierson (1970). Las muestras histológicas fueron lavadas en etanol 70%, deshidratadas en una serie creciente de etanol, aclaradas en xilol e incluidas en Paraplast® Plus. Posteriormente, los bloques fueron cortados en secciones de 5 a 7  $\mu$ m y teñidos con Hematoxilina-Eosina (H-E). Cortes adicionales de tres machos y una hembra fueron teñidos con tricrómico de Mallory.

Las muestras para microscopía electrónica de barrido (MEB) fueron deshidratadas en una serie creciente de etanol, a punto crítico en una secadora Tousimis<sup>®</sup>, Samdri<sup>®</sup>-780A, montadas en portaobjetos de bronce y cubiertas con oro en una ionizadora de metales JEOL JFC-1100 (Fine Coat<sup>®</sup> ion Sputter). Las muestras se observaron y fotografiaron en un microscopio de barrido JEOL, JSM-T300.

Las muestras para microscopía electrónica de transmisión (MET) fueron postfijadas en tetróxido de osmio al 1% en buffer fosfato 0,2 M, deshidratadas en una serie creciente de etanol y acetona e incluidas en Araldita. Cortes ultrafinos de 60 a 90 nm de grosor fueron obtenidos en un ultramicrótomo Sorvall MT-1 y posteriormente contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo. Las muestras fueron analizadas y fotografiadas en un microscopio electrónico de transmisión Hitachi H-700.

### Resultados

Los individuos analizados se encontraron maduros sexualmente observándose ovocitos vitelogénicos en la gónada femenina y espermatozoides móviles extraídos desde el gonoducto masculino. Los machos recolectados resultaron de menor tamaño que las hembras. Los machos en promedio pesaron 287,4 g y midieron 31,8 mm de longitud peristomal, mientras que las hembras pesaron 367,1 g y midieron 35,5 mm de longitud peristomal (Tabla 1). No se registró ocurrencia de hermafroditismo, parasitismo gonadal, ni imposex en ninguno de los ejemplares analizados.

#### Sistema reproductor femenino

El sistema reproductor femenino está constituido por un gonoporo, la glándula de la cápsula, la glándula de la albúmina, la bursa copulatrix, el receptáculo seminal y el ovario (Fig. 1A). Anexo a este sistema se encuentra el ovipositor. Esta estructura corresponde a un surco rugoso de color obscuro (amarillo o anaranjado), ubicado en la región derecha del propodio (Fig. 1B). Histológicamente, el ovipositor está constituido por un epitelio cilíndrico



Figura 1

Sinum cymba. A) Sistema reproductor femenino, B) El ovipositor en el surco derecho del propodio. (C-A: glándula de la albúmina, Co: concha, GF: gónada femenina, Gp: gonoporo, Pro: propodio, Ovi: ovipositor, (\*): ubicación interna de la bursa copulatrix y del receptáculo seminal)

Sinum cymba. A) Female reproductive system B) The ovipositor in the propodial right groove. (C-A: capsule gland-albumen gland, Co: shell, GF: female gonad, Gp: gonopore, Pro: propodium, Ovi: ovipositor, (\*): internal location of bursa copulatrix and the seminal receptacle)

ciliado, plegado, con un gran número de células glandulares subyacentes (Fig. 2A).

Detrás del tentáculo derecho se ubica el gonoporo, destacado por un promontorio rugoso, de tono obscuro que circunda la apertura (Fig. 1A). El gonoducto está delimitado en toda su longitud por un epitelio cilíndrico ciliado. El gonoducto es tubular hasta atravesar el borde del manto y posteriormente, se hace amplio, sinuoso y obliterado. Esta forma está determinada por las glándulas de la cápsula y de la albúmina que se encuentran asociadas y plegadas formando una estructura compacta. En la región dorsal de la primera porción del gonoducto se encuentra la bursa copulatrix. Esta estructura en corte transversal es de forma triangular y está dividida en lamelas formadas por los pliegues del conducto central (Figs. 2B, C). Bajo la bursa, hacia el costado izquierdo se encuentra el receptáculo seminal (Fig. 2B). El receptáculo tiene forma sacular, mide 0,5 mm de diámetro por 2 mm de longitud aproximadamente, está delimitado por musculatura circular e incluido en una región de tejido conectivo. El lumen está delimitado por un epitelio cilíndrico, ciliado y plegado, al cual se encuentran

asociados espermatozoides maduros adheridos por su cabeza a las células del epitelio. Ocasionalmente se encontraron espermatozoides desorganizados en el lumen del receptáculo (Fig. 2D).

La glándula de la cápsula está formada por células piriformes agrupadas en forma de U. En una misma agrupación se distinguen, intercaladamente, dos tipos de células según su afinidad tintorial (Fig. 2E). La glándula de la cápsula se encuentra estrechamente asociada a la glándula de la albúmina, sin límite aparente. Los acinos de la glándula de la albúmina están formados por células globosas, con núcleo pequeño y excéntrico y citoplasma poco afín a la H-E y al tricrómico de Mallory (Fig. 2F). Macroscópicamente, el ovario es de color naranjo pálido. Está delimitado por un epitelio cilíndrico y subyacente a éste se encuentran fibras musculares y tejido conectivo. Los túbulos miden  $370,2 \pm 65,4 \mu m$  de diámetro (n = 40). Las ovogonias miden 5,7  $\pm$  1,8  $\mu$ m (n = 40) de diámetro, están adheridas estrechamente a la pared del túbulo y su citoplasma es homogéneamente basófilo. Los ovocitos previtelogénicos miden  $19,6 \pm 6,5 \mu m (n = 90)$ de diámetro, se encuentran adheridos a la pared del



#### Figura 2

Sistema reproductor femenino de *Sinum cymba*. A) Corte transversal de ovipositor (Mallory), B) Sección transversal de la bursa copulatrix, C) Bursa copulatrix (H-E), D) Receptáculo seminal. El inserto muestra el epitelio luminal (H-E), E) Glándula de la cápsula (H-E), F) Glándula de la albúmina (Mallory), G) Ovario (H-E), H) Morfología de los ovocitos (MEB). (BC: bursa copulatrix, C: glándula de la cápsula, CEs: cabeza del espermatozoide, CG: células glandulares, Cn: tejido conectivo, Ep: células epiteliales, Es: espermatozoides, GC: células de la glándula de la cápsula, GA: células de la glándula de la albúmina, A: glándula de la albúmina, Hp: hepatopáncreas, M: células musculares, Ov: ovocitos maduros, Ovo: ovogonias, OI: ovocito inicial, OP: ovocito previtelogénico, V: gránulos de vitelo, RS: receptáculo seminal, VG: vesícula germinativa)

Female reproductive system of *Sinum cymba*. A) Transversal section of the ovipositor (Mallory), B) Transversal section of bursa copulatrix, C) Bursa copulatrix (H-E), D) Seminal receptacle. The inset shows the luminal epitelium (H-E), E) Capsule gland (H-E), F) Albumen gland (Mallory), G) Ovary (H-E), H) Oocytes morphology (SEM). (BC: bursa copulatrix, C: capsule gland, CEs: head of spermatozoa, CG: gland cell, Cn: connective tissue, Ep: epitelials cells, Es: sperm, GC: cells of the capsule gland, GA: cells of the albumen gland, A: albumen gland, Hp: hepatopancreas, M: muscle cells, Ov: mature oocytes, Ovo: oogonias, OI: initial oocyte, OP: previtelogenic oocyte, V: yolk granule, RS: seminal receptacle, VG: germinal vesicle)

túbulo, pero proyectados hacia el lumen. Poseen una vesícula germinativa clara y el citoplasma es heterogéneamente eosinófilo (Fig. 2G). Los ovocitos maduros son esféricos, miden 90,4  $\pm$  12,7  $\mu$ m (n = 90) de diámetro, poseen gránulos de vitelo eosinófilos, una vesícula germinativa pequeña, excéntrica y un nucléolo (Figs. 2G, H). Se encontraron ovocitos vitelogénicos y previtelogénicos en todos los túbulos de todos los ejemplares muestreados.

#### Sistema reproductor masculino

El sistema reproductor masculino está formado por un pene situado detrás del tentáculo derecho, un gonoducto, la vesícula seminal y el testículo (Fig. 3A). A diferencia de las hembras, el surco derecho del propodio en machos es liso y homogéneo en color (Fig. 3B). El surco está delimitado por un epitelio cilíndrico, ciliado, bajo el cual se encuentran escasas células glandulares (Fig. 4A). El pene mide  $17,6 \pm 2,7$  mm de longitud promedio (n = 17), es de color crema, tiene forma de un tubo lateralmente aplanado. El gonoporo está rodeado por un borde festoneado. Histológicamente, el pene es un órgano muscular delimitado por un epitelio cúbico de  $33.3 \pm 6.3$  $\mu$ m de altura (n = 20). Las fibras musculares están dispuestas longitudinal, circular y radialmente. El gonoducto o vaso deferente es central y está delimitado por un epitelio simple de células cilíndricas ciliadas de  $80,8 \pm 15,7 \ \mu m$  de altura (n = 20) (Fig. 4B). Rodeando este epitelio se encuentra tejido glandular formado por células piriformes agrupadas en forma de U, perpendicularmente respecto al vaso deferente. Esta capa glandular que rodea al gonoducto se extiende desde el ápice del pene hasta la cavidad paleal.

Macroscópicamente, la gónada es de color café, de

aspecto liso y turgente. Microscópicamente, la gónada está organizada en túbulos y delimitada por epitelio cilíndrico y tejido conectivo. Los túbulos seminíferos miden 206,0  $\pm$  114,7 µm (n = 40) de diámetro y su disposición es perpendicular a la pared gonadal (Fig. 4C). Grupos de células en diferentes estados de la gametogénesis se encuentran asociados a la pared del túbulo pudiendo encontrarse todos los estados de la espermatogénesis en cada sección transversal (Fig. 4D). Las espermátidas forman gavillas compactas con sus colas dirigidas hacia el lumen y en promedio ocupan 17,2  $\pm$  7,3% del perímetro tubular (n = 30). Los espermatozoides se encuentran en el lumen de los túbulos. Son filiformes y miden aproximadamente  $137,11 \pm 18,5$  $\mu m$  (n = 90) de longitud. La cabeza es cónica, curvada, basófila (H-E) y mide  $14,1 \pm 2,9 \mu m$  (n = 90) (Figs. 4D, E).

Los túbulos seminíferos convergen hacia una zona central ubicada entre la gónada y el hepatopáncreas. En esta porción los túbulos tienen un diámetro menor y la pared está constituida por un epitelio simple, cúbico y ciliado. Esa región del túbulo transporta los espermatozoides hasta la vesícula seminal (Fig. 4F). En corte transversal, la vesícula seminal se distingue como una región café obscura de la cual emana abundante líquido blanco. Microscópicamente, está formada por acinos de células cilíndricas ciliadas de  $41.8 \pm 11.1 \ \mu m$ de altura (n = 40). El lumen de los acinos es amplio y aloja gran cantidad de espermatozoides desorganizados. In vivo, los espermatozoides recolectados de esa porción son maduros y móviles. Las células de la vesícula seminal contienen abundantes gránulos amarillo anaranjados en su citoplasma (Fig. 4G). Mediante MET se observó que las células de la vesícula seminal contienen





Sinum cymba. A) Sistema reproductor masculino, B) Surco derecho del propodio (GM: gónada masculina, Pe: pene, Pro: propodio, SD: surco derecho, VS: vesícula seminal)

Sinum cymba. A) Male reproductive system, B) Propodial right groove (GM: male gonad, Pe: penis, Pro: propodium, SD: right groove, VS: seminal vesicle)

espermatozoides encerrados en vesículas membranosas. En otras vesículas de estas células se observaron enrollamientos de membranas denominados 'figuras de mielina' (Fig. 4H).

# Discusión

Este estudio confirma que *Sinum cymba* es una especie gonocórica. No se evidenció imposex en ninguna de las 20 hembras analizadas a pesar de ser un fenómeno detectado en otros gasterópodos de la bahía La Herradura como *Xanthochorus cassidiformis* (Espinoza & Osorio 2002<sup>1</sup>) y *Priene scabrum* (obs. pers.) y en otros Naticidae como *Neverita didyma* (= *Glossaulax didyma*) de las costas de Japón (Horiguchi *et al.* 1997, Horiguchi *et al.* 2001).

El sexo de la mayoría de los gasterópodos sólo se puede determinar mediante la observación del pene que está oculto por la concha o analizando la distribución de tamaños por sexo (Bernard 1968, Hyman 1967, Webber 1977). En este estudio se determinó la ocurrencia de una

estructura glandular conspicua en el pie de las hembras que no se ha descrito para otros miembros de la familia y que denominamos ovipositor pedal. El desove de Lunatia nitida en cautiverio descrito por Ziegelmeier (1961) evidencia la importancia de este surco propodial en la formación de la ovipostura, sin embargo, el autor fue incapaz de utilizarlo como carácter distintivo de los sexos. Tampoco se incluye esta estructura en la descripción anatómica del sistema reproductivo de Natica fasciata ni Polinices mellosus (Riedel 2000). En el grupo Caenogastropoda se ha descrito un ovipositor para miembros de Littorinoidea, como un surco glandular ubicado en la cabeza, detrás y debajo del tentáculo derecho que conduce las cápsulas en dirección al pie (Buckland-Nicks & Chia 1990). Si bien, hay una diferencia anatómica, en ambos grupos estas estructuras 'como grieta' colaboran en la depositación de las cápsulas y en el caso de S. cymba su aspecto macroscópico servirá para determinar el sexo de los ejemplares con facilidad.

El sistema reproductor de la hembra concuerda con el patrón general descrito para Caenogastropoda (Hyman 1967, Webber 1977), sin embargo, cabe destacar diferencias con *L. nitida*. Ziegelmeier (1961) describe un gonoducto tubular, paralelo al recto, con el gonoporo a la altura del ano y bajo el cual un 'canal de huevo' recibe

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Espinoza M & C Osorio. 2002. Determinación de imposex en *Xanthochorus cassidiformis* (Blainville, 1832) (Gastropoda: Prosobranchia) en la IV región de Chile. XXII Congreso de Ciencias del Mar, Chile, p. 99.



#### Figura 4

Sistema reproductor masculino de *Sinum cymba*. A) Corte transversal del surco derecho del propodio (Mallory), B) Corte transversal del pene. El Inserto muestra el vaso deferente (Mallory), C) Testículo (H-E), D) Corte transversal de un túbulo seminífero (H-E), E) Espermatozoides (MEB), F) Unión de túbulos seminíferos y vesícula seminal. El inserto muestra los espermioductos (H-E), G) Vesícula seminal (Tricómico de Mallory), H) Espermatozoides y 'figuras de mielina' (MET). (Ces: cabeza del espermatozoide, CG: células glandulares, Ci: espermatocitos, Cs: espermioductos, Ep: células epiteliales, Es: espermatozoides, Et: espermátidas, Fl: flagelo, FM: figuras de mielina Go: espermatogonias, M: células musculares, N: núcleo, TTr: túbulo en transformación, TS: túbulos seminíferos, VS: vesícula seminal)

Male reproductive system of *Sinum cymba*. A) Transversal section of propodial right groove (Mallory), B) Transversal section of penis. The inset shows the vas deferens (Mallory), C) Testis (H-E), D) Transversal section of seminiferous tubule (H-E), E) Sperm (SEM), F) Transversal section of testis and seminal vesicle. The inset shows the spermducts (H-E), G) Seminal vesicle (Mallory), H) Sperm and 'myeline figure' (TEM). (Ces: head of spermatozoa, CG: gland cells, Ci: spermatocytes, Cs: spermducts, Ep: epithelial cells, Es: sperm, Et: spermatids, Fl: tail, FM: myelin figures, Go: spermatogonia, M: muscle cells, N: nucleus, TTr: tubule in transformation, TS: seminiferous tubules, VS: seminal vesicle)

los cigotos y los transporta hasta el pliegue del propodio. Dicho canal no se encuentra en *S. cymba* y el gonoporo situado delante del ano y detrás del tentáculo derecho, desemboca directamente al ovipositor pedal.

En el sistema de *S. cymba* destacan dos estructuras conspicuas que no se han descrito en otros Naticidae: la bursa copulatrix y el receptáculo seminal. Ambas son comunes en gasterópodos, pero varían en su forma y su función ha sido discutida (Roth 1960, Hyman 1967, Webber 1977, Reid 1989).

La forma de saco, la estructura histológica y la asociación de los espermatozoides al epitelio del receptáculo de S. cymba es ampliamente coincidente con las descripciones dadas para la mayoría de las especies de Caenogastropoda (Roth 1960, Hyman, 1967, Reid 1989). Esta estructura cumpliría la función de nutrir los espermatozoides para mantenerlos viables hasta la siguiente fecundación (Holm 1946, Morton 1955, Roth 1960, Buckland-Nicks et al. 1999). Concordantemente, información sobre hembras que depositan oviposturas estando aisladas de machos incluye grupos diversos como Littorinidae, Pomatiopsidae, Bursidae, Muricidae e incluso Naticidae (Roth 1960, D'Asaro 1969, Jordan & Ramorino 1975, Gallardo & Garrido 1989, Kingsley-Smith 2003). La capacidad de mantener espermatozoides en el receptáculo seminal permitiría fecundar ovocitos sin mediar cópula simultánea con este proceso y representaría una mayor adecuación para una especie como S. cymba, cuyos individuos suelen encontrarse en forma aislada en el ambiente natural.

La bursa copulatrix en caenogasterópodos, está ubicada generalmente en el extremo anterior del oviducto y tiene forma de saco (Hyman 1967, Ried 1989). En *S*.

cymba esta estructura se ubica anteriormente, pero tiene una organización de cámara abierta similar a la descrita para algunos Muricidae, aunque histológicamente es glandular y no muscular (Kool 1989, 1993a,b, Muñoz 1994). Respecto a su función se han propuesto varias alternativas: nutrición de los espermatozoides, degradación de los mismos, transporte de espermatozoides hasta el receptáculo y servir como sitio para la fecundación (Roth 1960, Thompson 1966, Hyman 1967, Webber 1977, Clelland et al. 2001). La estructura interna de la bursa de S. cymba y el encuentro de huevos maduros en buen estado, masas de vitelo y espermatozoides sin orden particular sugieren al menos dos posibles funciones. Por un lado podría corresponder al lugar donde ocurre la fecundación con espermatozoides provenientes del receptáculo. La conexión con el receptáculo seminal, el área aumentada por los pliegues y la densa ciliatura favorecerían el encuentro y unión efectiva de los gametos. Por otro lado, la ocurrencia de ovocitos en desintegración y la apariencia secretora de las células sugiere la función de sitio de degradación. Esto último podría ser causado por el estrés que sufren los individuos al salir de su medio o podría corresponder a un proceso usual de eliminación de células como se ha sugerido para Helisoma duryi (Clelland et al. 2001). Hay antecedentes sobre la actividad de la fosfatasa alcalina en el lumen de la bursa de H. duryi. Esta enzima incrementa después de la cópula coincidiendo con la muerte de los espermatozoides remanentes en esa estructura (Clelland et al. 2001). Por último, no se descarta que la desintegración de los gametos corresponda a un artefacto debido al tratamiento de las muestras. Determinar la función de la bursa copulatrix en S. cymba requerirá mayor número de observaciones y estudios experimentales.

En el sistema reproductor masculino la morfología del pene y las glándulas asociadas son considerados caracteres taxonómicos (Reid 1989, Kool 1993b). Contrario a *S. cymba*, otros Naticidae como *Lunatia nitida* y *Polinices mellosus* poseen un vaso deferente abierto (Ziegelmeier 1961, Riedel 2000). Esta condición es considerada un 'estado primitivo' dentro de los gasterópodos (Riedel 2000, Ponder 1984). De acuerdo a esto, *Sinum* se ubicaría como un taxon más terminal dentro de Naticidae coincidiendo con el análisis de otras características morfológicas (opérculo y concha) y moleculares (Hülsken 2008).

Cabe destacar la ubicación de la glándula prostática en el pene de *S. cymba.* Usualmente esta glándula, cuya función se relaciona con la nutrición y protección de los espermatozoides, se ubica en una porción del gonoducto anterior al pene (Hyman 1967, Ried 1989, Adiyodi & Adiyodi 1991). Ponder (1984) informa que algunas especies de Rissoidae desarrollan glándula prostática en el pene y que tal ubicación puede ser usada como un carácter taxonómico. Para la familia Naticidae no existe información que permita evaluar esta característica como herramienta taxonómica ni relacionarla con otros aspectos reproductivos.

En la vesícula seminal se determinó la presencia de espermatozoides y 'figuras de mielina' dentro de células de esta estructura. Las figuras son restos de membrana enrolladas producidas habitualmente por la reabsorción de organelos o fagocitosis de células desgastadas o cancerígenas (Pardo 1996, Castejón 2008). La fagocitosis de espermatozoides en la vesícula seminal también se ha descrito para otros gasterópodos (Buckland-Nicks & Chia 1976, Adiyodi & Adiyodi 1991). Estas evidencias sugieren que además de la función usualmente asignada a esta estructura como secretora del medio seminal, también serviría para reabsorber los espermatozoides menos viables o envejecidos. El envejecimiento o disminución de la capacidad fecundante se ha demostrado en litorínidos cuyos espermatozoides almacenados durante un período de tiempo en el sistema reproductor femenino, tienden a fusionar sus membranas plasmáticas quedando incapacitados para movilizarse y fecundar (Buckland-Nicks et al. 1999).

La organización intratubular masculina observada en *S. cymba* es similar a la descrita para otra especie de Naticidae, *Glossaulax didyma* (Kim *et al.* 2007) y se caracteriza por células germinales estrechamente asociadas a las paredes de los túbulos seminíferos y un lumen amplio. A diferencia de estas especies, en la mayoría de los prosobranquios los estados más tempranos de la gametogénesis están cerca de las paredes de los

túbulos y en la medida que avanza el desarrollo gametogénico, los estados más tardíos se ordenan hacia el centro del túbulo hasta que los espermatozoides se desprenden de la columna y se vacían al lumen. Ejemplo de ello son Turbinidae (Joll 1980), Trochidae (Brown 1992, Lee 2001), Haliotidae (Sobhon et al. 2001), Nacellidae (Morriconi 1999), Sphincterochilidae (Hodgson & Shachak 1991), Strombidae (Aldana et al. 2005), Ampullaridae (Carreón-Palau et al. 2003), Thaididae (Rojas et al. 1986), Muricidae (Ramorino 1975, Avilés & Lozada 1975) y otros. Sin embargo, existen algunas diferencias entre G. didyma y S. cymba. G. didyma desarrolla un ciclo reproductivo de tipo estacional y en cada estado de madurez, predomina un estado gametogénico dentro de los túbulos (Kim et al. 2007). En S. cymba, en cambio, el ciclo reproductivo es de tipo continuo (Romero et al. 2003) y en sus túbulos es posible observar todos los estados gametogénicos en cada sección transversal. Esta organización intratubular masculina favorecería la producción y liberación secuencial de espermatozoides maduros hacia el lumen y se propone como hipótesis que esta distribución intratubular se relaciona con el ciclo reproductivo de tipo continuo en especies de este grupo. Para probar esta hipótesis se deberá estudiar la estructura gonadal en conjunto con el ciclo reproductivo de otros Naticidae.

### Agradecimientos

Nuestros agradecimientos a la Dra. Karin Lohrmann y al Dr. Orlando Garrido por su apoyo en las técnicas histológicas, al Sr. Marcos León por la confección de los dibujos, al Sr. Helmo Pérez por la recolección de los ejemplares y a los evaluadores por sus correcciones y sugerencias.

### Literatura citada

- Adiyodi KG & RG Adiyodi. 1991. Reproductive biology of invertebrates. Volume III. Accessory sex glands, 542 pp. John Wiley & Sons, New York.
- Álamo W & V Valdivieso. 1987. Lista sistemática de moluscos marinos del Perú, 205 pp. Boletín Extraordinario, Instituto del Mar del Perú, Callao.
- Aldana D, E Baqueiro & G Martínez. 2005. Gonad development and reproductive pattern of the fighting conch *Strombus pugilis* (Lineé, 1758) (Gastropoda, Prosobranchia) from Campeche, Mexico. Journal of Shellfish Research 24(4): 1127-1133.
- Avilés AS & LE Lozada. 1975. Estudio histológico del ciclo reproductivo de *Concholepas concholepas* (Brugiére, 1789) en Punta Saliente, Coquimbo. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción 64: 207-218.

- Bernard FR. 1968. Sexual dimorphism in *Polinices lewisi* (Naticidae). The Nautilus 82: 1-3.
- Brown D. 1992. Testicular organization and spermatogenesis in *Tegula (Chlorostoma) tridentata* (Poteiz and Michaud, 1838) (Mollusca: Archaeogastropoda: Trochidae). Microscopía Electrónica y Biología Celular 16(1): 17-34.
- **Buckland-Nicks J & FS Chia. 1976**. Fine structural observations of sperm resorption in the seminal vesicle of a marine snail, *Littorina scutulata* (Gould, 1849). Cell and Tissue Research 172: 503-515.
- Buckland-Nicks JA & FS Chia. 1990. Egg capsule formation and hatching in the marine snail, *Littorina sitkana*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 326: 159-176.
- Buckland-Nicks J, I Bryson, L Hart & V Partridge. 1999. Sex and snail's sperm: on the transport, storage and fate of dimorphic sperm in Littorinidae. Invertebrate Reproduction and Development 36(1-3): 145-152.
- Carreón-Palau A, E Uria-Galicia & F Espinosa-Chávez. 2003. Desarrollo morfológico e histológico del sistema reproductor de *Pomacea patula catemacensis* (Baker 1922) (Mollusca, Caenogastropoda: Ampullariidae). Revista Chilena de Historia Natural 76(4): 665-680.
- **Castejón OJ. 2008**. Electron microscopy of myelin figures in normal and pathological tissues. A review. Acta Microscópica 17(2): 13-19.
- Clelland E, TD Renna & AS Saleuddin. 2001. The structure of the bursa copulatrix in virgin and mated snails, *Helisoma duryi* (Mollusca): role of acid phosphatase in reproduction. Invertebrate Biology 120(1): 1-12.
- D'Asaro CN. 1969. The comparative embryogenesis and early organogenesis of *Bursa corrugate* Perry and *Distorsio clathrata* Lamarck (Gastropoda: Prosobranchia). Malacologia 9(2): 349-389.
- **Gallardo C & O Garrido. 1989**. Spermiogenesis and sperm morphology in the marine gastropod *Nucella crassilabrum* with an account of morphometric patterns of spermatozoa variation in the family Muricidae. Invertebrate Reproduction and Development 15(3): 163-170.
- Haszprunar G. 1988. On the origin and evolution of major gastropod groups, with special reference to the Streptoneura. Journal of Molluscan Studies 54: 367- 441.
- Hodgson AN & AM Shachak. 1991. The spermatogenic cycle and role of the hermaphrodite duct in sperm storage in two desert snails. Invertebrate Reproduction and Development 20(2): 125-136.
- Holm LW. 1946. Histological and functional studies on the genital tract of *Lymnaea stagnalis appressa* Say. Transactions of the American Microscopical Society 65(1): 45-68.
- Horiguchi T, H Shiraishi, M Shimizu & M Morita. 1997. Imposex in sea snails, caused by organotin (Tributyltin and Triphenyltin) pollution in Japan: a survey. Applied Organometallic Chemistry 11: 451-455.

- Horiguchi T, HS Cho, H Shiraishi, M Kajima, M Kaya & M Morita. 2001. Contamination by organotin (Tributyltin and Triphenyltin) compounds from antifouling paints and endocrine disruption in marine gastropods. RIKEN Review 35: 9-11.
- Hülsken T. 2008. Phylogenetic relationship and species identification within the Naticidae Guilding, 1834 (Gastropoda: Caenogastropoda). Ph. D. Thesis, Faculty of Chemistry and Biochemistry, Ruhr University Bochum, Bochum, 444 pp.
- Hyman LH. 1967. The Invertebrates: Mollusca I. Vol 6: 1-792. McGraw-Hill, New York.
- **Joll LM. 1980**. Reproductive biology of two species of Turbinidae (Mollusca: Gastropoda). Australian Journal of Marine and Freshwater Research 31: 319-335.
- Jordan J & L Ramorino. 1975. Reproducción de Littorina (Austrolittorina) peruviana (Lamarck, 1822) y Littorina (Austrolittorina) araucana Orbigny, 1840. Revista de Biología Marina 15(3): 227-261.
- Keen AM. 1971. Sea shells of tropical West America, 1064 pp. Stanford University Press, Stanford.
- Kim DG, EY Chung, E Kim. 2006. Oogenesis and reproductive cycle of *Glossaulax didyma* on the West coast of Korea. Korean Journal of Malacology 22(1): 13-22.
- Kim DG, EY Chung, MS Shim & K Hwang. 2007. Reproductive ecology of the bladder moon, *Glossaulax didyma (Gastropoda: Naticidae) in Western Korea*. Korean Journal of Malacology 23(2): 189-198.
- Kingsley-Smith P, C Richardson & R Seed. 2003. Sizerelated and seasonal patterns of egg collar production in *Polinices pulchellus* (Gastropoda: Naticidae) Risso 1826. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 295: 191-208.
- **Kool SP. 1988**. Aspects of the anatomy of *Plicopurpura patula* (Prosobranchia: Muricoidea: Thaidinae), new combination, with emphasis on the reproductive system. Malacologia 29(2): 373-382.
- Kool SP. 1993a. The systematic position of the genus *Nucella* (Prosobranchia: Muricidae: Ocenebrinae). The Nautilus 107: 43-57.
- Kool SP. 1993b. Phylogenetic analysis of the Rapaninae (Neogastropoda: Muricidae). Malacologia 35: 155-259.
- Lancellotti D & JA Vásquez. 2000. Zoogeografía de macroinvertebrados bentónicos de la costa de Chile: Contribución para la conservación marina. Revista Chilena de Historia Natural 73(1): 99-129.
- Lee JH. 2001. Gonadal development and reproductive cycle of the top shell, *Omphalius rusticus* (Gastropoda: Trochidae). Korean Journal of Biological Sciences 5: 37-44.
- Martoja R & M Martoja-Pierson. 1970. Técnicas de histología animal, 350 pp. Toray-Masson, Barcelona.

- Morriconi E. 1999. Reproductive biology of the limpet *Nacella* (*P.*) *deaurata* (Gmelin, 1791) in bahía Lapataia (Beagle Channel). Scientia Marina 63: 417-426.
- **Morton JE. 1955.** The functional morphology of the British Ellobiidae (Gastropoda Pulmonata) with special reference to the digestive and reproductive systems. Philosophical Transactions of the Royal Society of London 238(661): 89-160.
- **Muñoz L. 1994**. Estudio anatomo-histológico del sistema reproductor de *Nucella crassilabrum*. Tesis de Pedagogía en Biología, Química y Ciencias Naturales, Facultad de Filosofía y Humanidades, Universidad Austral de Chile, Valdivia, 37 pp.
- Pardo FJ. 1996. Anatomía patológica, 1364 pp. Elsevier, Madrid.
- **Ponder WF. 1984**. A review of the genera of Rissoidae (Mollusca: Mesogastropoda: Rissoacea). Records of the Australian Museum 4: 1-221.
- Ponder WF & DR Lindberg. 1996. Gastropod phylogenychallenges for the 90's. En: Taylor JD (ed). Origin and evolutionary radiation of the Mollusca, pp. 135-154. Oxford University Press, Oxford.
- Ponder WF, DJ Colgan, JM Healy, A Nützel, LR Simone & EE Strong. 2008. Caenogastropoda. En: Ponder WF & DR Lindberg (eds). Phylogeny and evolution of the Mollusca, pp. 331-383. University of California Press, Berkeley.
- Ramírez BJ. 1987. Moluscos de Chile. 2: Mesogastropoda, 172 pp. Imprenta del Museo Nacional de Historia Natural de Chile, Santiago de Chile.
- Ramorino ML. 1975. Ciclo reproductivo de Concholepas concholepas en la zona de Valparaíso. Revista de Biología Marina 15(2): 149-177.
- **Reid DG. 1989**. The comparative morphology, phylogeny and evolution of the gastropod family Littorinidae. Philosophical Transactions of the Royal Society of London 324(1220): 1-110.
- Riedel F. 2000. Ursprung und Evolution der 'höheren' Caenogastropoda: eine paläobiologische Konzeption. Berliner Geowissenschaftliche Abhandlungen, Reihe E, Paläobiologie 32: 1-240.

- Rodríguez MI. 1997. Observaciones de *Sinum cymba* (Menke, 1828) (Gastropoda: Naticidae). Amici Molluscarum 5: 5-7.
- Rojas N, J Tarazona & V Ishiyama. 1986. Ciclo de reproducción y escala de madurez gonadal en el 'Caracol' *Thais (Stramonita) chocolata* (Duclos, 1832). Revista de Ciencias Universidad Nacional Mayor de San Marcos 74(1): 117-129.
- **Romero M, K Lohrmann, G Bellolio & E Dupré. 2003**. Comparative observations on reproduction, spawning, and early veligers of three common subtidal mesogastropods from North Central Chile. The Veliger 46(1): 50-59.
- **Roth A. 1960**. Aspects of the function of the bursa copulatrix and seminal receptacle in the prosobranch snail *Oncomelania formosana* Pilsbry and Hirase. Transactions of the American Microscopical Society 79(4): 412-419.
- Shaw BL & HI Battle. 1957. The gross microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). Canadian Journal of Zoology 35: 325-347.
- Simone LRL. 2006. Morphological and phylogenetic study of the western Atlantic *Crepidula plana* complex (Caenogastropoda, Calyptraeidae), with description of three new species from Brazil. Zootaxa 1112: 1-64.
- Sobhon P, S Apisawetakan, V Linthong, V Pankao, CH Wanichanon, A Meepool, M Kruatrachue, ES Upatham & T Pumthong. 2001. Ultrastructure of the differentiating male germ cells in *Haliotis asinina* Linnaeus. Invertebrate Reproduction and Development 39(1): 55-66.
- Thompson TE. 1966. Studies on the reproduction of Archidoris pseudoargus (Rapp) (Gastropoda Opisthobranchia). Philosophical Transactions of the Royal Society of London 769: 343-374.
- Turner RD & PJ Boyle. 1975. Studies of bivalve larvae using the scanning electron microscope and critical point drying. Bulletin of the American Malacological Union 1974: 59-65.
- Webber HH. 1977. Gastropoda: Prosobranchia. En: Giese A, JS Pearse & VB Pearse (eds). Reproduction of marine invertebrates, Vol 4: 1-97. Academic Press, New York.
- Ziegelmeier E. 1961. Zur Fortpflanzungsbiologie der Naticiden (Gastropoda: Prosobranchia). Helgolander Wissenchaftliche Meeresuntersuchungen 8(1): 94-118.

Recibido el 19 de diciembre de 2008 y aceptado el 17 de septiembre de 2009