

# CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LAS "ESTETAS" (MOLL. POLYPLACOPHORA)

por Francisco Castelló

## Introducción

Prosiguiendo nuestros estudios sobre la anatomía de los Moluscos Polyplacóforos, realizamos una serie de trabajos sobre la morfología y la estructura de las estetas, cuyos resultados se exponen en el presente trabajo.

Los órganos sensitivos o estetas son terminaciones nerviosas de origen neuroepitelial, que discurren por el interior del tegumentum de las placas de los quitones, poniéndose en contacto con el exterior a través de unos finísimos poros abiertos en el perióstraco.

Las estetas fueron descritas por primera vez por MOSELEY, quien las consideró órganos táctiles. Algo más tarde, NOWIKOFF (1907), PLATE von KNORRE y HOFFMAN (1930), estudiando por separado la estructura histológica y la morfología de las citadas terminaciones, en algunas especies de quiton, llegaron a la conclusión de que las había de diferentes aspectos y con misión específica. Misión que en algunas estaba relacionada con la captación de intensidad luminosa. Estas terminaciones sensibles a la luz fueron denominados «ojos de las placas».

A partir de los estudios realizados por los citados autores, los investigadores que hasta hoy han dedicado su atención a las estetas han utilizado, como base para sus estudios, los esquemas anatómicos y la interpretación histológica realizados por NOWIKOFF sobre todo.

Sin embargo ni NOWIKOFF ni PLATE llegan a dilucidar de manera clara y completa la estructura de los «ojos de las placas»; incluso exponen algunas interpretaciones contradictorias y dejan algunos aspectos sin explicar.

Como sea que el trabajo de revisión de todas las estructuras es imposible de concretar dentro del contexto de la presente publicación, hemos creído

conveniente exponer los resultados obtenidos de la investigación realizada sobre un tipo de «ojos de la placa», en dos especies de quitones. Este es, por lo tanto el primero de una serie de trabajos que pensamos realizar sobre la morfología y estructura de las estetas en las especies de quitones que habitan las costas del mediterráneo español.

### Material y métodos

Para el presente trabajo se han utilizado ejemplares de Moluscos Poliplacóforos recolectados por el autor en las costas de Cataluña (desde Port Bou hasta los confines de la Provincia de Tarragona) y en las costas de las Islas Baleares (Mallorca, Menorca e Ibiza).

Las especies encontradas en las citadas regiones son: *Chiton olivaceus* SPENGLER, 1897; *Ischnochiton rissoi* PAYRAUDEAU, 1826; *Acanthochiton communis* RISSO, 1826; *Acanthochiton fascicularis* LINNÉ, 1766; *Middendorffia caprearum* SCACCHI, 1836; *Lepidochitona (Trachydermon) cinereus* LINNÉ, 1766; y *Lepidopleurus cajetanus* POLI, 1791.

En las placas de las citadas especies hemos realizado dos tipos de estudios: en principio un estudio «in toto» de la morfología y distribución de las estetas en todas y cada una de las especies citadas. Paralelamente se ha estudiado la estructura histológica de las estetas, ya sea con procedimientos de microscopía clásica, ya sea utilizando el ultramicroscopio.

Para los estudios realizados al microscopio óptico se han utilizado las técnicas clásicas de inclusión en parafina, cortes seriados, de 7-9 micras y tinciones según los métodos de HOLMES, BIELCHOWSKY, método rápido de GOLGI y método de CAJAL.

Para la ultramicroscopía, se han fijado los ejemplares en gluteraldehído (3-5 %), tamponado con «sorensen», a pH = 7.2 - 7.4, a 4° C., durante una o dos horas. Los cortes ultrafinos (300-500 Å) fueron contrastados en citrato de plomo, según la técnica de REYNOLDS, durante 30 minutos.

Uno de los problemas de difícil resolución que presenta el estudio de las estetas, es la decalcificación de las placas. Proceso durante el cual se corre el peligro de dañar a las células nerviosas con la acción de los ácidos decalcificadores. Para llevar a cabo esta operación hemos utilizado el ácido clorhídrico (1-2%), ácido nítrico (1-2%) y el ácido fosfotúngstico (1-4%), siendo este último el que mejores resultados nos ha proporcionado. El tiempo de decalcificación oscila entre 7 y 15 días.

También hemos probado la técnica empleada por JESSEN y MOE (Z. *Zellsforsch*, 1972), en la cual el ácido es sustituido por un «secuestrador de iones» el EDTA al 2'5 %, en disolución 0'2 molar de glucosa, a pH = 7'4 y a 4° C. durante 15-20 minutos.

Agradecemos a los Dres. Vallmitjana y Bargalló, así como a los demás miembros del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona, las facilidades y ayuda que nos han brindado para la realización del presente trabajo.

## RESULTADOS

### 1) Morfología y distribución

El estudio de las placas de las especies citadas anteriormente, vistas al microscopio óptico una vez decalcificadas, nos ha proporcionado los siguientes resultados.

a) *Chiton olivaceus*, presenta en sus placas una enorme cantidad de ejes de estetas, dispuestos en varios niveles a diferente profundidad dentro del tegumentum. Cada uno de estos ejes origina numerosas ramificaciones o megalostetas las cuales a su vez presentan un número considerable de cortas microstetas dispuestas en filas longitudinales.

La distribución de los ejes de las estetas sobre la placa es bastante uniforme y regular. Se hallan dispuestos como las varillas de un abanico en las dos áreas laterales posteriores, convergiendo hacia el vértice posterior de la placa. Por encima del surco lateral, o sea en las áreas laterales anteriores, los ejes adoptan una posición anteroposterior, paralelos unos a otros y ligeramente orientados hacia la zona central de la placa. En el área central los ejes de las estetas están dispuestos en abanico (véase fig. 1, n.º 1).

b) *Lepidopleurus cajetanus*. Esta especie se caracteriza por tener las placas adornadas por profundos surcos y gruesas «costillas» semicirculares y concéntricas en las áreas laterales posteriores. Lógicamente esta morfología condiciona la distribución de las estetas de manera específica. Los órganos visuales en cuestión se encuentran acumulados en las áreas anteriores y en la zona central en ejes más o menos paralelos y en dirección anteroposterior y dibujando ligeros arcos que siguen la fina estriación de estas regiones anteriores. Las estetas son muy escasas en esta especie.

Morfológicamente las megalostetas recuerdan a las de la especie antes estudiada aun y cuando poseen menos microstetas y éstas están provistas de

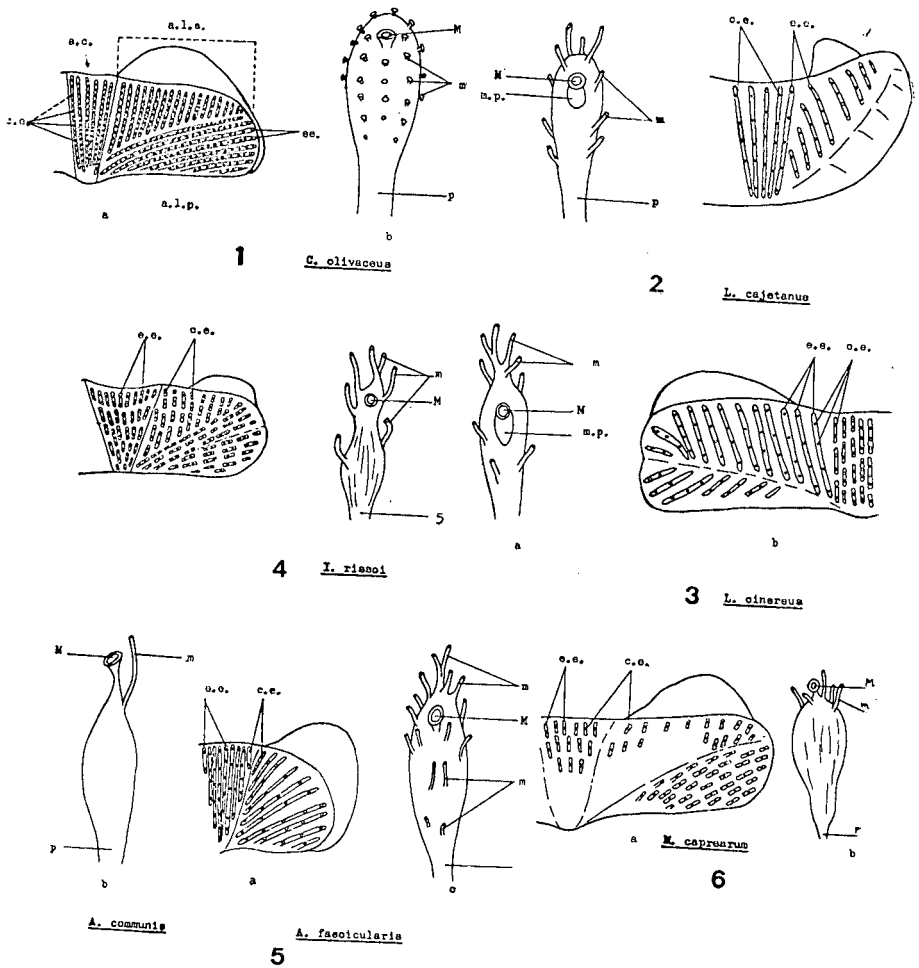


FIG. n.º 1.—Distribución de las estetas sobre las placas de diferentes especies de quitón.

- a.c.—área central  
 a.l.a.—área lateral interior  
 a.l.p.—área lateral posterior  
 c.e.—cuerpos de las estetas  
 M.—cuerpo de una megalosteta  
 m.—microsteta  
 p.—pedúnculo nervioso

un largo y fino pedúnculo y vistas al microscopio dan la impresión de originarse de las regiones laterales de las megalostetas. (fig. 2)

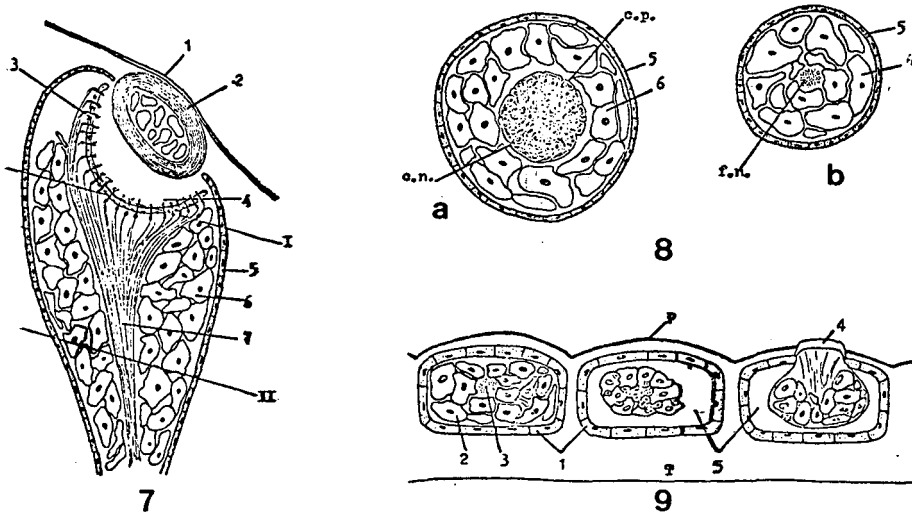


FIG. n.º 2.

n.º 7.—Corte transversal esquemático de un «ojo de la placa»

- 1).—perióstraco
- 2).—cristalino
- 3).—cono celular «visual» o retina
- 4).—dendritas
- 5).—vaina protectora de células secretoras
- 6).—células de relleno o acompañantes
- 7).—axones de las neuronas retinianas

n.º 8.—a) Corte transversal esquemático del «ojo»

- 5).—vaina envolvente
- 6).—células acompañantes
- c.n.—células visuales
- c.p.—células pigmentarias

b) Corte transversal esquemático del mismo «ojo» a nivel más bajo

- 5).—células envolventes
- 6).—células acompañantes
- f.n.—fibras nerviosas

n.º 9.—Corte transversal del tegumentum de una placa de poliplacóforo.

- T.—tegumentum
- P.—perióstraco
- 1).—vaina de células secretoras
- 2).—células acompañantes
- 3).—fibras nerviosas
- 4).—«córnea»
- 5).—espacios esquizocélicos

c) *Lepidochitona cinereus* posee enormes megalostetas que dan la impresión de que cada una de ellas sale del extremo distal de un eje propio. En realidad, y gracias a los cortes histológicos, hemos comprobado que los ejes de las estetas están en esta especie en posición muy profunda, originando largos pedúnculos que se dirigen hacia arriba y con una gran megalosteta en su extremo.

Los cuerpos de las estetas son grandes, mazudos, algo alargados y afinados en su extremo distal de donde sale un fino tronco que se bifurca en varias (5-6) microstetas. Sobre el cuerpo de la megalosteta son muy poco numerosas las microstetas. Las pocas que existen tienen un fino y largo pedúnculo.

La distribución de las estetas sobre las placas recuerda algo a la distribución que hemos visto en *C. olivaceus*, en especial en las áreas laterales anteriores de las placas. En las áreas posteriores laterales, los ejes son cortos y en posición anteroposterior de manera que forman un ángulo agudo los ejes de las áreas laterales anteriores. En el área central los ejes se distribuyen paralelos unos a otros, en dirección anteroposterior y no se ven continuos sino formados por una serie de cortos segmentos sucesivos. En el conjunto de la placa la densidad de estetas es muy inferior a la que hemos encontrado en la primera especie estudiada.

d).—*Ischnochiton rissoi* presenta sus placas completamente recubiertas de innumerables y finísimas estetas, de forma muy típica y situadas todas al mismo nivel.

El cuerpo de la esteta es alargado, de forma mazuda, presentando una estrangulación; transversal en la región media. A partir de este estrangulamiento el cuerpo de la esteta se va afinando acabando su extremo distal en un modo de pedúnculo rematado por dos finas microstetas. Estas, sobre el cuerpo de la esteta son poco abundantes (de 4 a 5 por término medio) y están provistas de un largo y fino pedúnculo que surge de la región lateral de la megalosteta.

La distribución de los ejes de las estetas sobre las placas, coincide con la vista en *C. olivaceus*.

e).—*Acanthochiton*. De este género hemos estudiado las dos especies frecuentes en nuestro litoral, las cuales presentan una clara diferencia en cuanto a la morfología de sus estetas ya que no en su distribución.

En ambas especies la distribución es muy similar. Una serie de ejes paralelos ocupan el área central de la placa, siendo estos ejes más largos en el centro que en los bordes. En las áreas laterales los ejes dibujan arcos concéntricos, muy poco curvados, dispuestos en diagonal.

En ambas especies, las estetas se ponen en contacto con el exterior a través de unos poros periostracales de forma específica: poros prácticamente circulares en *A. comunis* y elípticos, en forma de lágrima en *A. fascicularis*.

La primera especie citada tiene los cuerpos de las estetas de forma ahusada, con el extremo distal mucho más fino que el proximal y alargado por un pedúnculo en cuyo extremo se halla situado el casquete cuticular de la macrosteta. De la zona anterior del cuerpo de las estetas salen como máximo, una o dos prolongaciones que representan las únicas microstetas en esta especie.

En *A. fascicularis* los cuerpos de las estetas presentan una morfología muy semejante a la que hemos visto en *C. olivaceus* y *L. cajetanus*, aunque algo menos mazudas, más largas y finas y con abundantes microstetas (16-20) que salen de todos los puntos del cuerpo de la esteta, formando finos y cortos pedúnculos.

f).—*Middendorffia caprearum*. Esta especie, por lo menos en los ejemplares estudiados, tarea árdua y difícil por la cantidad de algas incrustantes que presentan las placas, son los más pobres en estetas.

Los cuerpos de las estetas son de forma muy típica. Grandes y en forma de «berenjena», con el polo distal más grueso que el proximal y con el capuchón cuticular de la macrosteta en posición apical. Rodeando a éste, y sólo de esta región, salen cuatro o cinco microstetas de péndulo finísimo y relativamente largo.

Las estetas se encuentran acumuladas en los bordes anteriores de las áreas laterales y en la región anterior del área central. Los ejes de las estetas discurren a gran profundidad.

## 1.— Estructura de los "ojos de las placas"

Los estudios realizados con microscopía óptica se han efectuado en ejemplares pertenecientes a todas las especies citadas. Estas técnicas nos

han permitido hacernos una idea de la distribución, posición y aspecto de los ejes de las estetas en el interior del tegumentum, así como una idea aproximada de la estructura interna de los órganos sensitivos.

*I. rissoi* presenta en su tegumentum una sola capa de ejes situados todos ellos al mismo nivel de profundidad. Lo mismo ocurre en *M. caprearum* en las áreas laterales, mientras que en el área central se pueden distinguir dos estratos de ejes alternantes. En *Acanthochiton*, *L. cinereus* y *C. olivaceus* por el contrario, son varios los estratos de ejes en el interior del tegumentum, saliendo de ellos los pedúnculos nerviosos en dirección a la superficie.

En un corte transversal de una placa de quitón se puede observar que los citados ejes y pedúnculos de las estetas no están en contacto con el tegumentum, sino que discurren a través de unos canales con una estructura diferente a la amorfa que tiene el citado tegumentum. Estos canales o vainas se ve claramente al microscopio que están formados por una capa de células de tipo secretor que envuelve al haz de fibras nerviosas, y cuyas células se forman a partir de la cresta formadora de las estetas y diferenciadas posteriormente. (Véase fig. 2, núm. 9).

Dentro de estos canales se adivinan con las técnicas de microscopía clásica, dos tipos de células. Unas que tiñen perfectamente con métodos argénticos y otras que presentan pigmentación interna. (Ver fig. 2, núm. 8).

Precisamente para poder dilucidar de manera clara y taxativa esta estructura hemos utilizado técnicas de estudio de ultramicroscopía.

En el presente trabajo sólo se mencionan los resultados obtenidos del estudio de uno de los tipos de «ojos de la placa», el denominado *ojo extrapigmentario* por PLATE (1902) y NOWIKOFF (1907). Advertimos también que la mencionada estructura sólo se ha estudiado en dos de las especies citadas, *A. fascicularis* y *L. cinereus*, únicas especies que, por el momento, podemos tener vivas en el laboratorio, lo cual nos permite aplicarles las técnicas adecuadas.

Según PLATE y NOWIKOFF, los «ojos extrapigmentarios» no son más que una megalosteta complicada cuya estructura es la siguiente:

Para PLATE, el «ojo» constaría de: córnea, lente, células de pigmento y células retinianas.



NOWIKOFF describe al «ojo» como formado por córnea, lente, retina (con células visuales y células intercalares) y células llenas.

Frente a las descripciones dadas por los citados autores, nosotros hemos podido constatar las siguientes diferencias:

La *córnea*, que para muchos autores está formada por perióstraco y tegumentum (por lo menos en los géneros *Tonicia* y *Acanthopleura*), nosotros la hemos visto formada por una finísima capa de perióstraco simplemente, la cual recubre al cristalino, el cual está inmerso dentro del tegumentum (vase ultramicrofotografía núm. 3).

*Cristalino*. Tampoco en la interpretación de este órgano hay coincidencia en las descripciones dadas por los dos autores. PLATE no encuentra en la lente ninguna estructura ordenada, mientras que NOWIKOFF habla de una estriación transversal (*A. japonica*) o concéntrica (*A. spiniger*). En las especies estudiadas por nosotros al ultramicroscopio, el cristalino se presenta como una formación esférica, ligeramente elíptica y formada por finísimas capas concéntricas de naturaleza quitinosa, hueca en el centro y en cuyo hueco hay una masa amorfa dispuesta en grumos y con espacios vacíos en su interior (véase foto núm. 3).

Debajo de la lente se encuentra lo que nosotros denominamos «cúpula retiniana», en la cual se distinguen claramente dos tipos de células: *células con pigmento* y *células sensitivas* (véase fotos núm. 4 y 5).

Las células pigmentarias o «retinianas», presentan un gran núcleo, de forma irregular y con la cromatina distribuída en dos fases. Una densa y periférica, pegada a la membrana y otra masa de cromatina más laxa dispuesta más o menos en el centro de la célula. En el citoplasma se aprecian gran cantidad de gránulos de pigmento retiniano de forma redondeada. Esta descripción difiere en algunos detalles de la que PLATE hace de sus «células con pigmento» y de las «células llenas» de NOWIKOFF.

Las células sensitivas se encuentran intercaladas entre las anteriores. Son células de naturaleza neuroepitelial. Corresponden a las «células intercaladas» de NOWIKOFF y emiten unas prolongaciones cortas dirigidas hacia la lente y otras más largas que formaran el pedúnculo de las estetas. Para nosotros no queda duda alguna de la naturaleza nerviosa de las células, ni de que las prolongaciones sean verdaderas neuritas, cosa que dudaba NOWIKOFF (véase fotos núm. 5 y 6).

El «cuerpo vítreo» citado por los ya nombrados autores, corresponde al espacio que queda entre la lente y la cúpula visual, el cual está ocupado por las dendritas de las células visuales.

Aparte de los elementos citados, típicamente visuales, completa la estructura de las estetas una envoltura a modo de vaina, externa, formada por dos tipos de células: una fina capa externa, de células glandulares con núcleos alargados y la cromatina con idéntica distribución a la que hemos visto en las células retinianas y con el citoplasma repleto de gránulos de secreción. Esta vaina externa se inicia justo debajo del cristalino y rodea a todo el eje nervioso de la esteta separándolo del tegumentum.

Entre la vaina y las citadas fibras nerviosas se encuentran capas de células con el citoplasma sin gránulos de secreción. Estas células empiezan a encontrarse por debajo de la cúpula visual, de manera que en el extremo distal de la megalosteta, entre la vaina y la cúpula no se encuentran apenas células y sí grandes espacios esquizocélicos, suponemos que llenos de algún líquido refringente. (Véase fig. núm. 2, 7, y 8).

Las *microstetas* son finas ramificaciones originadas del cuerpo de la megalosteta. Su estructura es bastante sencilla estudiada al ultramicroscopio.

El ápice distal, en contacto con el medio ambiente, está recubierto por un fino capuchón de naturaleza quitinosa, en el cual se pueden distinguir dos zonas: la más externa formada por una capa amorfa de quitina densa y debajo de ella otra capa quitinosa mucho menos densa.

Debajo del capuchón se distingue un espacio hueco, ocupado por numerosas prolongaciones de tipo «microvilli» procedentes de la única célula que forma el cuerpo de la microsteta. Esta célula es larga cilíndrica y con el citoplasma muy vacuolizado. En este citoplasma y siempre en posición apical, se distingue un gran cuerpo con estructura de ergastoplasma.

No se han podido distinguir en las microstetas estudiadas ninguna formación o estructura de tipo nervioso. (Véase foto núm. 8).

### **Resumen y conclusiones**

La distribución que presentan los ejes de las estetas sobre las placas de los quitones es muy semejante en todas las especies estudiadas, viniendo determinada por la morfología externa de las citadas placas. Precisamente las dos especies que se apartan de manera clara del esquema normal son

*L. cajetanus*, y *M. caprearum*, que también son los más pobres en órganos sensitivos.

La morfología del cuerpo de la esteta presenta también un plan común en la mayoría de las especies (forma mazuda) con ligeras variaciones de forma y número de microstetas. Únicamente *I. rissoi* y *M. caprearum* presentan formas muy típicas y diferentes al resto de especies.

La estructura de «los ojos extrapigmentarios» se nos presenta determinada, por lo menos en *A. fascicularis* y *L. cinereus*, que son las especies estudiadas aquí. por: un *cristalino*, de sección ligeramente elíptica y formado por finas capas concéntricas de quitina. Una *córnea*, formada por una finísima capa de perióstraco. El *cuerpo vítreo*, espacio entre la lente y la cúpula visual ocupado por las dendritas de las células nerviosas. La *cúpula visual*, formada por células retinianas con gránulos de pigmento y células neuroepiteliales intercaladas entre las anteriores, que originan neuritas que forman el pedúnculo de la esteta. Envolviendo a este complejo visual existe una masa de células que no presentan ningún tipo de diferenciación y externamente una *vaina*, formada por una capa de células ricas en productos de secreción y que aíslan a la esteta de la masa amorfa del tegumentum.

## RESUMEN

En la presente publicación se exponen los resultados de los estudios realizados sobre la morfología y distribución en las placas de los «quiton», de las *estetas*. Se han utilizado como material de estudio las especies de Moluscos Polioplacóforos más corrientes en las costas de las Islas Baleares y del litoral de Cataluña.

Asimismo se exponen los resultados preliminares de los estudios a nivel histológico y ultramicroscópico realizados en los «ojos de las placas» o estetas visuales en las especies *Acanthochiton fascicularis* y *Trachydermon cinereus*.

## SUMMARY

In this paper the results of the study concerning morphology and distribution of the esthetes on the plate of Polyplacophora are exposed. The commonest species on Balearic and Catalanian coast are studied.

On the same time histologic and fine structure of shell-eyes of *A. fascicularis* and *T. cinereus* are studied.

Barcelona, 15 julio 1974.

## BIBLIOGRAFIA

- BAGINSKI, S.—1964. Morphologie de la neuroglie du cerveau d'*Eledone moschata*. *Vie et milieu*. Tomo XV, fasc. 3, pg. 645.
- BAKER, S.R.—1958. Principles of Biological Microtechniques. London.
- BEKLEMISHEV, W.N.—1969. Principles of comparative anatomy of invertebrates.
- CAPELLINI, G.—1858. Catalogue des escabrons de la Méditerranée suivi de la description de quelques espèces nouvelles. *Journ. de Conch.* vol. VII, pp. 320-328, Pl. XII. Paris.
- CASTELLO ORVAY, F.—Sobre algunos aspectos de la anatomía de los Poliplacóforos. *P. Inst. Biol. Apl.* 41. 1966.
- GRASSE, P.—1960. Traité de Zoologie. Tomo V, fasc. 2.
- KUKENTHAL, W.—1925. Handbuch der Zoologie.
- LELOUP, E.—1938. Die Chitonen (Polyplacophoren) der Adria. *Thalassia* 2, 10.
- PILSBRY, H.A.—1892. Polyplacophora (Chitons). In Tyron's «Manual of Conchology», Vol. XIV. pp. 350, 68 pls., vol. XV, pp. 133, 17 pls., *Acad. Nat. Sci. Philadelphia*.
- PLATE, L.—1897. Die Anatomie und Phylogenie der Chitonen. *Zool. Jhb.* suppl. 4.

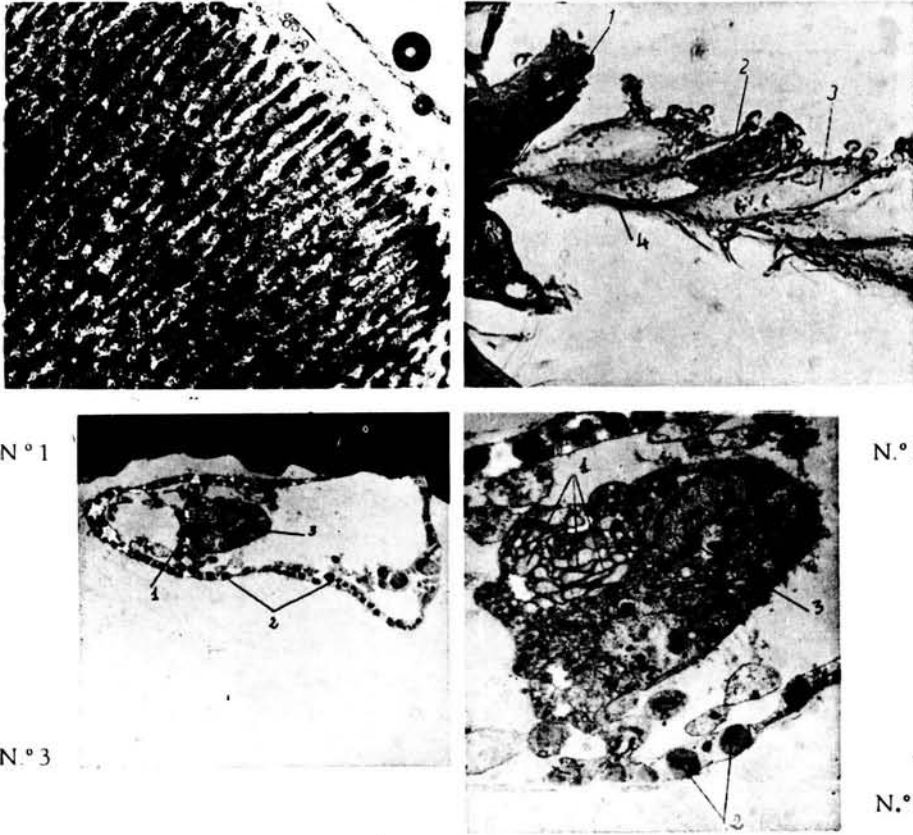
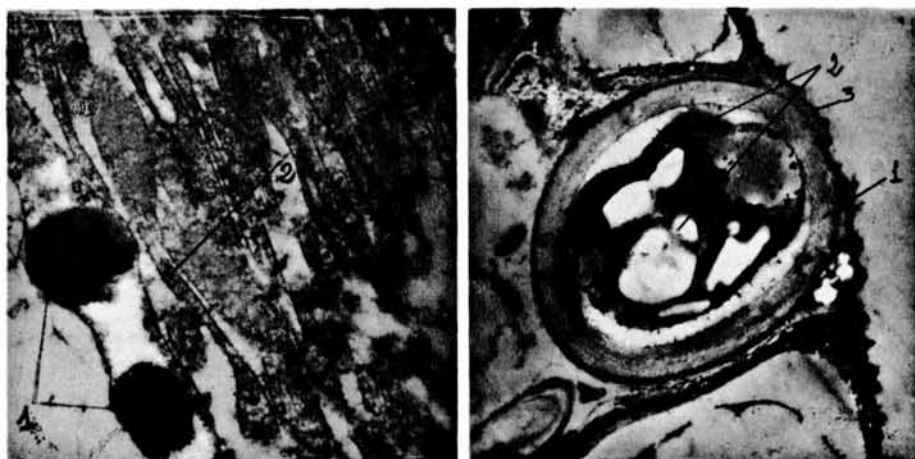


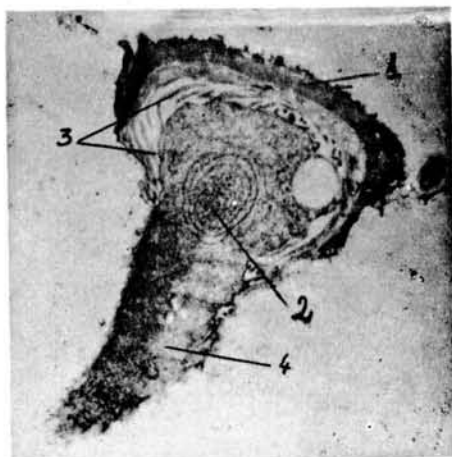
FIG. n.º 3

- 1).—Aspecto de una placa de *T. cinereus* de calcificada (x40)
- 2).—Corte transversal del tegumento de una placa de *T. cinereus* (x100)
  - 1).—epitelio generador de estetas
  - 2).—zona de células pigmentadas
  - 3).—cuerpo de una megalosteta
  - 4).—pendúnculo nervioso
- 3).—Sección transversal de una esteta vista al ultramicroscopio (x3.500)
  - 1).—haz de fibras nerviosas
  - 2).—vaina de células secretoras
  - 3).—células pigmentarias visuales, con los núcleos con la cromatina en posición periférica.
- 4).—Sección transversal de la misma esteta vista a mayor aumento (x10,000)
  - 1).—haz nervioso
  - 2).—gránulos de secreción de la vaina
  - 3).—núcleo



N.º 5

N.º 6



N.º 7

FIG. n.º 4

n.º 5.—Corte longitudinal de una esteta vista al ultramicroscopio (x30.000)

1).—vaina celular y granúlos de secreción

2).—fibras nerviosas

n.º 6.—Corte longitudinal del «cristalino» de una esteta visual (*A. fascicularis*) (x7.500)

1).—capas quitinosas concéntricas

2).—masa amorfa interna translúcida

3).—perióstraco o «córnea»

n.º 7).—Corte longitudinal de una microsteta vista al ultramicroscopio (x20.000)

1).—casquete quitinoso externo

2).—ergastoplasma

3).—«microvilli»

4).—citoplasma vacuolizado