

Estudio histomorfológico del aparato digestivo y distribución histoquímica de carbohidratos en el ostión *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819)

A. Rodríguez de la Rúa¹, M. L. González de Canales¹ y C. Sarasquete²

¹ Departamento de Biología Animal, Vegetal y Ecología. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz. Polígono Río San Pedro. E-11510 Puerto Real (Cádiz), España. Correo electrónico: marialuisa.gonzalez@uca.es

² Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía. Polígono Río San Pedro. E-11510 Puerto Real (Cádiz), España

Recibido en julio de 2001. Aceptado en febrero de 2002.

RESUMEN

Se realiza una descripción histomorfológica del aparato digestivo del ostión *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819) y se pone de manifiesto la distribución de carbohidratos mediante técnicas histoquímicas. La pauta general observada es la presencia de glucógeno en el tejido conjuntivo y de mucopolisacáridos/glicoproteínas neutras y/o ácidas en las membranas basales y el epitelio. En la glándula digestiva no se observa glucógeno debido, posiblemente, a su movilización hacia el tejido conjuntivo para su posterior uso con fines reproductivos.

Palabras clave: Histoquímica, carbohidratos, glucógeno, glicoproteínas, moluscos bivalvos, *Crassostrea angulata*.

ABSTRACT

Histomorphological study of the digestive tract of the oyster Crassostrea angulata (Lamarck, 1819), and distribution of carbohydrates

We present a histomorphological description of the digestive tract of the oyster *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819), as well as a histochemical study of its carbohydrate distribution. The study shows that, in general, glycogen is found in the connective tissue, and neutral mucopolysaccharides/glycoproteins and/or acid mucosubstances in the epithelium and basal cell layers. Glycogen was not detected in the digestive gland, possibly because of its mobilization to the connective tissue for reproduction.

Keywords: Histochemical, carbohydrates, glycogen, glycoproteins, bivalve molluscs, *Crassostrea angulata*.

INTRODUCCIÓN

En los moluscos bivalvos se encuentran diferentes órganos relacionados con el almacenamiento de nutrientes (glucógeno, proteínas, lípidos y otros) y destacan, por su importancia, la glándula digestiva (Thompson, Ratcliffe y Bayne, 1974;

Gabbot, 1976, 1983; Bayne, Thompson y Widdows, 1976; Sarasquete, Gimeno y González de Canales, 1992), el epitelio gonadal (Dzyuba y Malenniskova, 1987; Pipe, 1987) y, especialmente, el tejido conectivo (Eble, 1969; Lubet, 1976; Bayne *et al.*, 1982; Lowe, Moore y Bayne, 1982; Pipe, 1987; Medhioub y Lubet, 1988).

El aparato digestivo comienza en los palpos y la boca, a la que sigue una porción esofágica tubular que conduce al estómago, en el que desembocan los conductos procedentes de las glándulas o divertículos digestivos. El estómago continúa con el estilo cristalino, que produce secreciones enzimáticas. Posteriormente, las partículas alimenticias pasan a la glándula digestiva, donde acontece la digestión intracelular, aunque también tiene lugar parte de la digestión extracelular. Las partículas de mayor tamaño o sin valor alimenticio pasan directamente al intestino y no son digeridas. El intestino, que acaba en el recto y el ano, es largo y es donde se forman las heces (Bautista, 1988).

El objetivo de este estudio es conocer la distribución de carbohidratos en el aparato digestivo de *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819) por su importancia para establecer el origen de las reservas nutricionales y los procesos de obtención de energía, así como para observar posibles alteraciones histopatológicas inducidas por agentes infecciosos (virus, bacterias, hongos) y/o ambientales (metales, xenobióticos orgánicos y otros) que pueden producir alteraciones en las reservas glucídicas (Gutiérrez, 1969; González de Canales, 1986).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ejemplares de *C. angulata* fueron obtenidos de la piscifactoría Amalthea, en las salinas San Román, de Chiclana (Cádiz) y del medio natural, de los esteros de Sancti Petri (Chiclana). Los ostiones estudiados presentaron un peso medio de $9,94 \pm 0,35$ g y una longitud media de $8,37 \pm 0,10$ cm.

Se extrajeron porciones de aparato digestivo y se procedió a su fijación en formaldehído al 10 % tamponado con fosfato 0,1 M a pH: 7,2 y a la posterior inclusión en parafina de la forma habitual. Se hicieron cortes de 7 μ m y se aplicaron técnicas histológicas: hematoxilina de Harris-eosina y hematoxilina-VOF de Gutiérrez (Gutiérrez, 1967).

El estudio histoquímico se ha centrado en la localización de carbohidratos en los diferentes tejidos del aparato digestivo para obtener una idea general sobre su estado histo-fisiológico. Las referencias bibliográficas de estas reacciones histoquímicas (PAS, diastasa/PAS, azul Alcian con pH: 0,5, 1 y 2,5), así como algunas reacciones complementarias, se han tomado de las obras generales de Martoja y Martoja-Pierson (1970), Pearse (1985) y Vacca (1985) (tabla I).

Tabla I. Reacciones histoquímicas de carbohidratos utilizadas y funciones y/o compuestos demostrados.

Reacciones	Funciones y/o compuestos demostrados
Ácido peryódico-Schiff (PAS)	Aldehidos de la oxidación de glicoles y aminoalcoholes contiguos
Diastasa-PAS	Glucógeno, mucosustancias neutras y/o glicoproteínas
Azul Alcian pH: 2,5	Mucopolisacáridos ácidos carboxilados
Azul Alcian pH: 1	Mucopolisacáridos ácidos sulfatados poco ionizados
Azul Alcian pH: 0,5	Mucopolisacáridos ácidos sulfatados muy ionizados
Azul Alcian pH: 2,5/PAS	Mucopolisacáridos carboxilados, glucógeno, glicoproteínas y mucosustancias neutras

RESULTADOS

Caracteres histomorfológicos

Palpos labiales

Los palpos labiales son cuatro láminas que se encuentran situadas en la zona anterior del cuerpo, bajo el manto. Cada palpo se constituye de una capa de tejido conjuntivo, tapizado a ambos lados por un epitelio ciliado (figura 1a). Dicho epitelio varía entre dos tipos: liso y rugoso.

El epitelio liso está formado por células de forma cúbica, con grandes núcleos ovoidales situados a dos niveles: basal y apical. La cromatina se muestra condensada en gruesos gránulos. De estas células epiteliales surgen pequeños cilios. Este epitelio se apoya en una membrana basal relativamente gruesa y contiene células eosinófilas y mucosas.

El epitelio rugoso está formado por células alargadas, cilíndricas, con núcleos pequeños y redondos. Presenta mayor grosor que el epitelio liso, y también existen notables diferencias entre cada una de las partes del epitelio que se encuentran a cada lado de las crestas. Desde la base de cada cresta, la que tapiza el lado derecho es mucho más gruesa que la del lado izquierdo. Además, el epitelio del lado derecho presenta ondulaciones, mientras que el otro es liso. Las células son uniformes y tienen cilios pequeños que se distribuyen por todo el epitelio. La membrana basal sobre la que se apoya el epitelio rugoso es más fina que la del liso y está formada por fibras de tejido conjuntivo. Las cé-

lulas mucosas presentan un citoplasma claro, carecen de cilios y son más abundantes en los valles que en las crestas. También se observan células eosinófilas.

Entre los dos epitelios se encuentra el tejido conjuntivo, de tipo areolar, donde el elemento predominante son las células vesiculares, caracterizadas por su gran tamaño y núcleos pequeños. También existen fibras musculares transversales y longitudinales. Este tejido sirve de soporte a ambos epitelios.

Esófago

El esófago es corto, se presenta como un tubo comprimido dorso-ventralmente y comunica la boca con el estómago. El epitelio presenta numerosos entrantes y salientes. Las células epiteliales son pequeñas y con forma ovoidal; los núcleos presentan esta misma forma y su cromatina se tiñe muy intensamente. Se observan células eosinófilas, abundantes células mucosas y numerosos cilios repartidos uniformemente. La membrana basal del epitelio es pobre en fibrillas musculares y, sin embargo, rica en elementos celulares. El tejido conjuntivo presenta abundantes células vesiculares ricas en glucógeno.

Estómago

El estómago se presenta como un saco que posee numerosos pliegues e irregularidades. Se divide en distintas zonas; en la más cercana al esófago, la pared del estómago forma una cámara anterior. A continuación se distingue el ciego, que desemboca en la cámara posterior. Rodeando al estómago se encuentra la glándula digestiva.

El epitelio del estómago es ciliado, irregular, con numerosas ondulaciones tapizadas por células de diferentes tamaños. Las células epiteliales son de tipo columnar, con núcleo central pequeño y esférico. Presenta células mucosas y eosinófilas repartidas por el epitelio. La membrana basal es gruesa, con abundantes elementos celulares y fibrillas (figura 1b).

Saco del estilo cristalino

Esta estructura surge como un saco alargado que discurre paralelamente al intestino medio. Este saco aloja en su interior una estructura en forma de

bastoncillo que contiene una reserva de enzimas digestivas.

El epitelio presenta unas células muy regulares, columnares, con un núcleo de forma ovoidal y una capa de cilios muy densa y uniforme (figura 1c). Es en esta capa donde los cilios son más abundantes. Las células mucosas y eosinófilas son poco abundantes. Presenta una membrana basal gruesa y rica en elementos celulares y fibrillas.

Intestino medio

La porción de intestino entre el estómago y el recto recibe el nombre de intestino medio. Lo más característico en él es la presencia de un profundo surco en su pared interna.

El epitelio que lo reviste está constituido por células bastante regulares, alargadas y estrechas, con núcleos ovoidales en posición basal y cromatina condensada en gruesos gránulos (figura 1d). Es un epitelio ciliado, con numerosas células mucosas y eosinófilas y en el que también se observan fagocitos. La membrana basal es rica en fibrillas.

Glándula digestiva

La glándula digestiva, también conocida como hepatopáncreas, es la gran masa compacta que rodea el estómago y gran parte del intestino. Se compone de numerosos divertículos digestivos de fondo ciego, globulares o elongados, muy ramificados, que se comunican con el estómago por un sistema de túbulos o conductos (túbulos primarios) que van engrosándose hasta desembocar en el intestino.

En cortes transversales es posible diferenciar los túbulos primarios de los divertículos. Los túbulos primarios presentan una forma externa redondeada, con luz irregular con entrantes y salientes y de forma estrellada. Dentro de los túbulos primarios existe una parte ciliada y otra no ciliada. Se observan células mucosas y fagocitos.

Los divertículos digestivos carecen de cilios, presentan una luz irregular y contienen numerosas partículas, tanto en su epitelio como en su luz. Debido a la irregularidad de la luz, la altura de las células es variable; presentan un núcleo ovoidal y con posición basal. Contienen células mucosas, eosinófilas y fagocitos. La membrana basal es fina y con abundantes fibrillas.

Caracteres histoquímicos*Palpos labiales*

En las tablas II y III se recogen los resultados de las reacciones histoquímicas de carbohidratos en el aparato digestivo de *C. angulata* (figura 1e,f).

Las células del epitelio presentan una reacción PAS positiva que no sufre cambios tras una digestión previa con diastasa (diastasa/PAS), lo que in-

Tabla II. Resultados de las reacciones histoquímicas de carbohidratos en palpos, esófago y estómago. Intensidad de la reacción: (0): negativa; (1): débil; (2): moderada; (3): fuerte. Reacción azul Alcian pH: 2,5/PAS: (A): predominio del color azul; (AR): mezcla de ambos; (0): no existe reacción. (Epitel.): epitelio; (M. basal): membrana basal; (T. conj.): tejido conjuntivo.

		Resultados								
Reacciones	Funciones y/o compuestos	Palpos			Esófago			Estómago		
		Epitel.	M. basal	T. conj.	Epitel.	M. basal	T. conj.	Epitel.	M. basal	T. conj.
Ácido peryódico-Schiff (PAS)	Aldehidos de la oxidación de glicoles y aminoalcoholes contiguos	3	3	2	3	3	2	3	3	3
Diastasa-PAS	Glucógeno, mucosustancias neutras y/o glicoproteínas	3	3	1	3	3	1	3	3	1
Azul Alcian pH: 2,5	Mucopolisacáridos ácidos carboxilados	3	3	0	2	3	0	3	3	0
Azul Alcian pH: 1	Mucopolisacáridos ácidos sulfatados poco ionizados	2	3	0	2	3	0	1	3	0
Azul Alcian pH 0,5	Mucopolisacáridos ácidos sulfatados muy ionizados	2	3	0	0	3	0	0	3	0
Azul Alcian pH: 2,5/PAS	Mucopolisacáridos carboxilados, glucógeno, glicoproteínas y mucosustancias neutras	A	AR	0	R	A	0	R	A	0

Tabla III. Resultados de las reacciones histoquímicas de carbohidratos en estilo cristalino, intestino medio y glándula digestiva. Intensidad de la reacción: (0): negativa; (1): débil; (2): moderada; (3): fuerte. Reacción azul Alcian pH: 2,5/PAS: (A): predominio del color azul; (AR): mezcla de ambos; (0): no existe reacción. (Epitel.): epitelio; (M. basal): membrana basal; (T. conj.): tejido conjuntivo.

		Resultados								
Reacciones	Funciones y/o compuestos	Estilo cristalino			Intestino medio			Glándula digestiva		
		Epitel.	M. basal	T. conj.	Epitel.	M. basal	T. conj.	Epitel.	M. basal	Divert.
Ácido peryódico-Schiff (PAS)	Aldehidos de la oxidación de glicoles y aminoalcoholes contiguos	2	3	3	2	3	3	2	3	2
Diastasa-PAS	Glucógeno, mucosustancias neutras y/o glicoproteínas	3	3	1	3	3	1	2	3	2
Azul Alcian pH: 2,5	Mucopolisacáridos ácidos carboxilados	0	3	0	3	3	0	3	3	3
Azul Alcian pH: 1	Mucopolisacáridos ácidos sulfatados poco ionizados	0	2	0	0	2	0	1-0	2	3
Azul Alcian pH 0,5	Mucopolisacáridos ácidos sulfatados muy ionizados	0	2	0	0	2	0	1-0	2	3
Azul Alcian pH: 2,5/PAS	Mucopolisacáridos carboxilados, glucógeno, glicoproteínas y mucosustancias neutras	R	A	0	R	A	0	AR	A	A

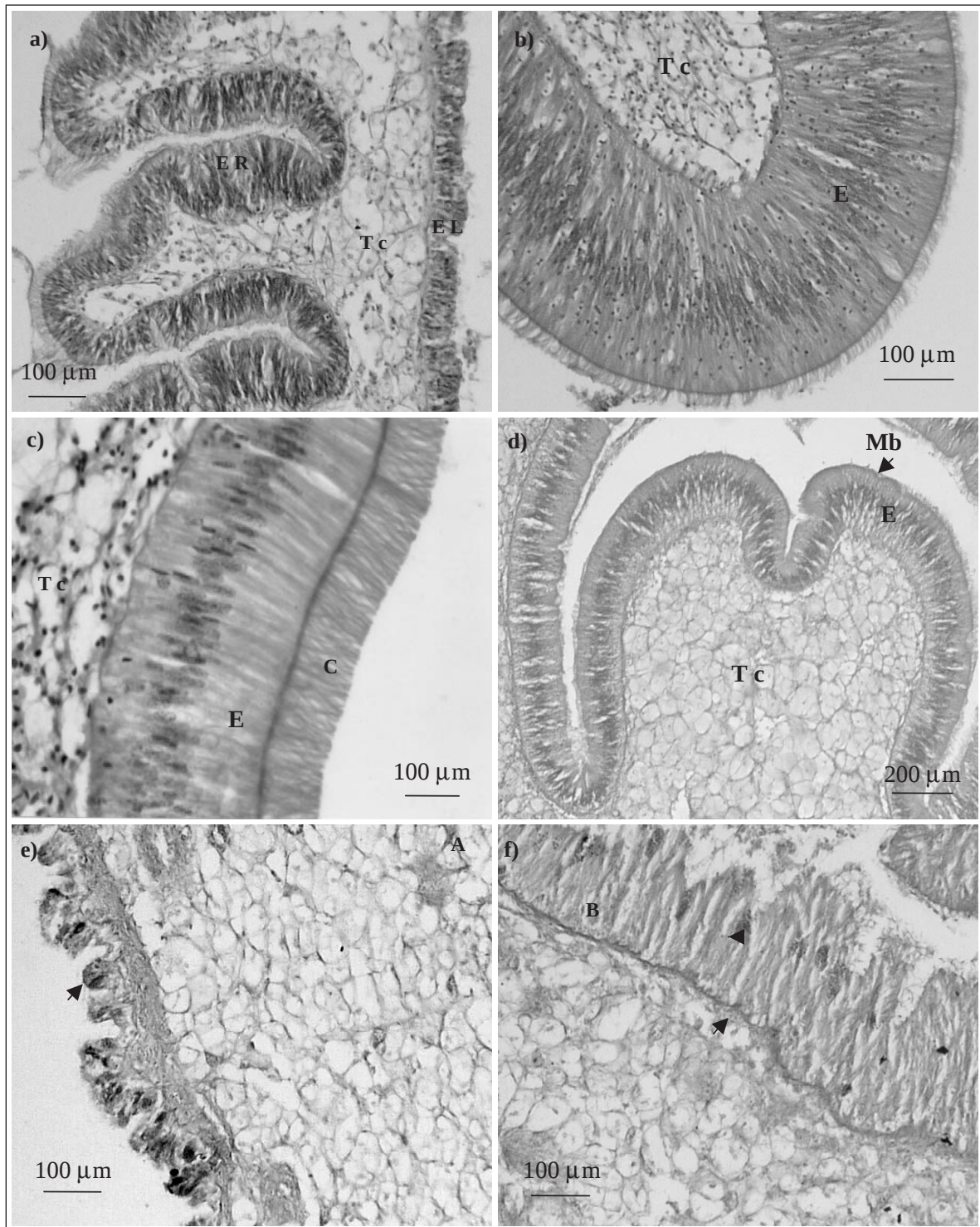


Figura 1. Secciones histológicas e histoquímicas del aparato digestivo de ostión *Crassostrea angulata*. (a): corte histológico de palpos (hematoxilina-eosina; $\times 10$) donde se observa una capa de tejido conjuntivo (Tc) y dos tipos de epitelios ciliados: liso (EL) y rugoso (ER); (b): sección histológica de estómago (hematoxilina-eosina; $\times 10$) donde se pone de manifiesto el epitelio ciliado (E) y el tejido conjuntivo que lo rodea (Tc); (c): detalle de epitelio de estilo cristalino (E) (hematoxilina-eosina; $\times 10$) donde se observan células prismáticas regulares y una capa de cilios (C) muy densa y uniforme, todo ello rodeado por tejido conjuntivo (Tc); (d): porción de intestino medio (hematoxilina-eosina; $\times 4$) donde se pone de manifiesto el epitelio ciliado (E) constituido por células prismáticas, la membrana basal (Mb) y el tejido conjuntivo (Tc); (e): epitelio rugoso de palpos y tejido conjuntivo ($\times 10$); la flecha indica la positividad de las células mucosas a la reacción azul Alcian (pH: 2,5); (f): sección histológica de estómago ($\times 10$) donde las flechas indican positividad a la reacción AA (pH: 2,5) al nivel de la membrana basal y las células mucosas de epitelio.

dica la existencia de mucosustancias neutras y/o glicoproteínas y la ausencia de glucógeno. Las células mucosas presentan una fuerte intensidad de coloración al azul Alcian a los tres pH (0,5, 1 y 2,5), que constata la existencia de mucopolisacáridos ácidos carboxilados y sulfatados (poco y muy ionizados).

La lámina basal es positiva a la reacción del PAS. La reacción AA 2,5/PAS revela que no hay predominio de las mucosustancias neutras sobre las ácidas. En los epitelios predomina la alcianofilia, esto delata una mayor presencia de mucosustancias ácidas carboxiladas frente a los mucopolisacáridos neutros y/o glicoproteínas.

El tejido conjuntivo muestra una reacción PAS positiva que disminuye tras el tratamiento previo con diastasa, indicando la presencia de glucógeno.

Esófago

En el epitelio del esófago, las células mucosas y la membrana basal presentan una reacción PAS positiva que no se modifica tras el tratamiento previo con diastasa, lo que pone de manifiesto la presencia de mucopolisacáridos neutros y/o glicoproteínas y la ausencia de glucógeno. Sin embargo, se destaca la presencia de glucógeno en el tejido conjuntivo.

En el epitelio predominan las células mucosas PAS positivas, mientras que en la membrana basal predomina la alcianofilia, que se relaciona con una mayor presencia de mucopolisacáridos ácidos, fundamentalmente carboxilados.

Estómago

Destaca el alto contenido en glucógeno en el tejido conjuntivo. En el epitelio y la membrana basal se observa la presencia de mucopolisacáridos neutros y glicoproteínas. En la membrana basal se observa una reacción intensamente positiva al AA (pH: 2,5, 1 y 0,5), lo que confirma su alcianofilia. El epitelio presenta variaciones: positivo a pH: 2,5, débil a pH: 1 y negativo a pH: 0,5, lo que indica la mayor presencia de mucopolisacáridos ácidos de tipo carboxílico y ausencia de grupos sulfatos muy ionizados.

Saco del estilo cristalino

Con las técnicas histoquímicas utilizadas se observa, de nuevo, la presencia de mucopolisacáridos

neutros y/o glicoproteínas en el epitelio y en la membrana basal, y de glucógeno en el conjuntivo.

Intestino medio

En la membrana basal se observa el predominio de las mucosustancias ácidas carboxiladas y sulfatadas poco y muy ionizadas frente a las mucosustancias y/o glicoproteínas neutras; en el epitelio, sin embargo, predominan las mucosustancias sulfatadas. La presencia de glucógeno se limita, como en otras porciones estudiadas, al tejido conectivo.

Glándula digestiva

En los divertículos digestivos se observa reacción PAS positiva al nivel de la membrana basal y del epitelio, que no sufre alteración al ser tratada con diastasa/PAS, confirmando la existencia de mucosustancias y/o glicoproteínas neutras.

En los divertículos digestivos se observan secreciones de dos tipos, que contienen, unas, mucopolisacáridos y/o glicoproteínas neutras y, otras, mucosustancias ácidas carboxiladas.

En los túbulos se observan glicoproteínas neutras y ácidas carboxiladas y sulfatadas, poco y muy ionizadas.

DISCUSIÓN

El sistema digestivo de los bivalvos se caracteriza por la existencia de un estómago complejo y una serie de estructuras asociadas (Galtsoff, 1964). El estómago del ostión *Crassostrea angulata* posee un epitelio ciliado con células epiteliales de tipo columnar, mucosas y eosinófilas. Resultados similares se han obtenido en los epitelios estomacales de otras especies de bivalvos, donde los cilios adquieren un importante papel en el proceso de transporte de sustancias digestivas (Galtsoff, 1964). La digestión incluye un proceso extracelular, en el estómago y en el estilo cristalino, y otro intracelular que se realiza en la glándula digestiva (Morton, 1983).

La tendencia general que se observa en todos los tejidos del aparato digestivo de *C. angulata* es de ausencia de glucógeno en el epitelio y las membranas basales y de su presencia en el tejido conjuntivo,

confirmándose la importancia de este último como zona de almacenamiento localizado de glucógeno, resultados que coinciden con los observados por Rodríguez Consuegra (1979) en fases juveniles de esta misma especie, por González de Canales, Sarasquete y Gutiérrez (1989) en *Ostrea edulis* Linnaeus, 1758 y por Sarasquete, Gutiérrez y Rodríguez (1985) en el hepatopáncreas de crustáceos. En el tejido conectivo del manto de *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) (Galtsoff, 1964), de *Ostrea edulis* (González de Canales, Sarasquete y Gutiérrez, 1989) y del mejillón (*Mytilus* sp.) proliferan las células de Leydig, también denominadas vesiculares y glucogénicas (Lubet, 1959). En los mitílidos se observan, además, las células adipogranulares que almacenan proteínas, lípidos y glucógeno (Pipe, 1987; Gimeno, Sarasquete y González de Canales, 1991).

Eble (1969) señala que en moluscos bivalvos hay una proliferación del tejido conectivo cerca de la gónada con fines de almacenamiento más localizado de glucógeno, a expensas de la reducción de la función hepática en esta labor. Ojea, Martínez y Novoa (2001) pusieron de manifiesto la variación de la composición en glucógeno a lo largo del ciclo gametogénico de la almeja fina *Ruditapes decussatus* (L., 1758), observando un aumento del glucógeno después del reposo sexual que alcanza los valores máximos antes de la fase de maduración; en la fase de reposo se encuentran los valores más bajos. La ausencia de glucógeno en la glándula digestiva podría estar relacionada con la movilización del mismo hacia el conjuntivo para su posterior utilización (Bayne *et al.*, 1978), transformándose el glucógeno acumulado en lípidos (triglicéridos) e incorporándose éstos, junto con determinadas proteínas (como la ovovitelina), al ovocito (Gabbot, 1976).

AGRADECIMIENTOS

A D. Agustín Santos por su colaboración en la elaboración técnica de este trabajo y a Amalthea y a D. Domingo Serén por su ayuda en la captura de los ejemplares.

BIBLIOGRAFÍA

- Bautista, C. 1988. *Moluscos, tecnología de cultivo*. Mundi-Prensa. Madrid: 167 pp.
 Bayne, B. L., A. Babel, P. A. Gabbot, D. R. Livingstone, D. M. Lowe y M. N. Moore. 1982. Glucogenolytic utilisation

- and gametogenesis in *Mytilus edulis* L. *Mar. Biol. Lett.* 3: 89-105.
 Bayne, B. L., D. L. Holland, M. N. Moore, D. M. Lowe y J. Widdows. 1978. Further studies on the effect of stress in the adult on eggs of *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. (UK)* 58: 825-841.
 Bayne, B. L., R. J. Thompson y J. Widdows. 1976. Physiology. I. En: *Marine mussels: their ecology and physiology*. B. L. Bayne (ed.): 121-126. International Biological Programme Cambridge University Press. Cambridge.
 Dzyuba, S. M. y L. A. Maslenniskova. 1987. Gametogenesis of the bivalve mollusk *Mya japonica*. *Biologiya Morya* 1: 37-43.
 Eble, A. F. 1969. A histochemical demonstration of glycogen, glycogen phosphorylase and branching enzyme in the american oyster. *Proc. Natl. Shellfish. Assoc.* 59: 27-34.
 Gabbot, P. 1976. Energy metabolism. En: *Marine mussels: their ecology and physiology*. B. L. Bayne (ed.): 293-356. Cambridge University Press. Cambridge.
 Gabbot, P. A. 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. En: *The Mollusca. Environmental biochemistry and physiology*. P. W. Hochachka (ed.) 2: 165-217. Academic Press. Nueva York.
 Galtsoff, P. S. 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fish. Bull.* 64: 1-480.
 Gimeno, S., C. Sarasquete y M. L. González de Canales. 1991. El glucógeno de las células de almacenamiento del mejillón, *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819. Demostración histoquímica. *Scientia Marina* 55 (2): 453-457.
 González de Canales, M. L. 1986. Localización histoquímica de la actividad fosfatasa alcalina en el ostión, *Crassostrea angulata* (Lmk.) (molusco bivalvo). *Cuadernos de Investigación Biológica* (Bilbao) 9: 1-5.
 González de Canales, M. L., M. C. Sarasquete y M. Gutiérrez. 1989. Histoquímica de carbohidratos y proteínas en la glándula digestiva y tejido conjuntivo de *Ostrea edulis* L. *Cuadernos de Investigación Biológica* (Bilbao) 14: 11-22.
 Gutiérrez, M. 1967. Coloración histológica para ovarios de peces, crustáceos y moluscos. *Inv. Pesq.* 31 (2): 265-271.
 Gutiérrez, M. 1969. Estudios electroforéticos de proteínas solubles del músculo aductor de *Crassostrea angulata* (Lmk.) y *Ostrea edulis* L. *Inv. Pesq.* 33 (1): 415-423.
 Lowe, D. M., M. N. Moore y B. L. Bayne. 1982. Aspects of gametogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis* L. *J. Mar. Biol. Ass. (UK)* 62: 133-145.
 Lubet, P. 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les mytilides et les pectinides (Mollusques bivalves). *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 23 (4): 386-548.
 Lubet, P. 1976. Ecophysiologie de la reproduction chez les mollusques lamellibranches. *Haliois* 7: 49-55.
 Martoja, R. y M. Martoja-Pierson. 1970. *Técnicas de histología animal*. Toray-Masson. Barcelona: 350 pp.
 Medhioub, N. M. y P. E. Lubet. 1988. Recherches histologiques sur l'environnement cellulaire ("tissu de réserve") des gonades de la palourde (*Ruditapes philippinarum*, Adams et Revé), Mollusque bivalve. *Ann. Sci. Nat. Zool. (Ser. 13)* 9: 87-102.

- Morton, B. 1983. Aspects of the biology and functional morphology of *Irus irus* (Bivalvia: Veneridae: Tapetinae) with a comparison of *Bassina calophylla* (Chioninae). En: *The malacofauna of Hong Kong and southern China*. B. Morton y D. Dudgeon (eds.) 2: 6-24. Hong Kong University Press. Hong Kong.
- Ojea, J., D. Martínez, S. Novoa, A. J. Pazos y M. Abad. 2002. Contenido y distribución de glucógeno en relación con el ciclo gametogénico de *Ruditapes decussatus* (L., 1758) en una población natural de las lagunas de Baldaio (Galicia, noroeste de España). En: *VIII Congreso nacional de acuicultura: Acuicultura y desarrollo sostenible* (22-25 de mayo, 2001. Santander, Cantabria, España). I. Arnal Atarés et al. (eds.). *Boletín. Instituto Español de Oceanografía* 18 (1-4): 307-313.
- Pearse, A. G. E. 1985. *Histochemistry theoretical and applied*. 4.^a ed. Churchill Livingstone. Edimburgo; Londres; Nueva York: 1 055 pp.
- Pipe, R. K. 1987. Ultrastructural and cytochemical study on interactions between nutrient storage cells and gametogenesis in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 96: 519-528.
- Rodríguez Consuegra, M. A. 1979. *Estudio morfológico e histoquímico de carbohidratos en Crassostrea angulata*. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla: 220 pp.
- Sarasquete, M. C., S. Gimeno y M. L. González de Canales. 1992. Distribución histoquímica de carbohidratos, proteínas y lípidos en la glándula digestiva de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.). En: *Seminario Internacional do Mexillon* (6-10 de noviembre, 1989. A Toxa, O Grove, España). (Cuadernos da Área de Ciencias Mariñas) 6: 15-23. Publicacións do Seminario de Estudos Galegos. Sada (A Coruña).
- Sarasquete, M. C., M. Gutiérrez y A. Rodríguez. 1985. Caracteres citohistoquímicos de carbohidratos y proteínas del hepatopáncreas del langostino *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775). *Inv. Pesq.* 49 (3): 387-399.
- Thompson, R. J., N. A. Ratcliffe y B. L. Bayne. 1974. Effects of starvation on structure and function of the digestive glands of the mussel (*Mytilus edulis*). *J. Mar. Biol. Ass. (UK)* 54: 699-712.
- Vacca, L. L. 1985. *Laboratory manual of histochemistry*. Rave-Press. Nueva York: 578 pp.