



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**DISTRIBUCIÓN Y DENSIDAD DE LAS ESCAMAS
PLACOIDEAS DE LA REGIÓN OROFARÍNGEA DE**

Sphyrna lewini

(CHONDRICHTHYES: SPHYRNIDAE)

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

ERÉNDIRA IVONNE RAMÍREZ HERNÁNDEZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Jorge Ricardo Gersenowies Rodríguez

Tlalnepantla, Estado de México Septiembre, 2014





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis viejitos:

Agustín Hernández Arroyo † y Delfina Munguía Ordoñez †

A mis padres:

María Rosa Hernández Munguía y Mario Ramírez Domínguez

A mi hermanito:

Leobardo Omar Ramírez Hernández

Por su amor infinito que es mi más grande fortaleza, por enseñarme a vivir con absoluta pasión y entrega; y por darme la libertad de hacer lo que más amo en la vida. Gracias por creer en mí.

¡¡¡Lo logramos, yeí!!!

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, porque durante estos 4 años me ha brindado las herramientas para poder ejercer mi más grande pasión.

A mi director de tesis, el Dr. Gersenowies, por su apoyo, su paciencia, sus consejos, las risas, las pláticas y los días de arduo trabajo. Gracias por hacerme crecer como nunca y por ser una gran fuente de inspiración.

A mi familia del 51, a mis compañeros del Laboratorio de Anatomía Animal Comparada y a todas aquellas personas que me han brindado su amistad. Porque ustedes han hecho de la Biología lo mejor que me ha pasado en la vida. Fue un honor el haber crecido a su lado, ¡los quiero muchísimo!

Finalmente quiero agradecerle a ti mi Carlitos, mi Munis minis, mi Karlita, mi Kary k-boom y a ti mi Rafita. Gracias por haberse cruzado en mi camino y hacerme feliz. Atesoro todos y cada uno de los momentos que viví con ustedes. Perdonen si en algún momento les fallé, espero que nunca olviden lo mucho que representan para mí. Los amo y admiro con todo mi ser.

이 세상을 살면서 진정으로 행복해지기 위해 필요한 세 가지:

사랑해야 할 사람, 해야 할 일, 이루어지길 바라는 소망

Tom Bodett

Í N D I C E

RESUMEN	1
GENERALIDADES	2
INTRODUCCIÓN	2
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE	5
ANTECEDENTES	8
TÉCNICA DE TINCIÓN	8
DENTÍCULOS DÉRMICOS.....	10
DENTÍCULOS ORO FARÍNGEOS	12
CONTROVERSIAS EVOLUTIVAS	15
JUSTIFICACIÓN	17
OBJETIVOS	18
MÉTODO	19
RESULTADOS	21
IDENTIFICACIÓN DE ESCAMAS PLACOIDEAS.....	21
CUANTIFICACIÓN DE ESCAMAS PLACOIDEAS	22
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
MEDICIÓN DE CONDROCRÁNEOS	31
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	41

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la distribución y densidad de escamas placoideas en la región orofaríngea y en la superficie cefálica de *Sphyrna lewini* mediante la técnica de transparentación con doble tinción. Los datos fueron comparados con los de otras dos especies de Carcharhiniformes: *Rhizoprionodon terraenovae* y *Carcharhinus limbatus*.

De esta manera fue posible detectar grandes cantidades de escamas placoideas en las porciones lingual, palatina y branquial de la región orofaríngea de las tres especies. La distribución y morfología de las escamas varía interespecíficamente, pero existe una tendencia a su confinamiento en la porción anterior de la cavidad oral.

S. lewini posee el mayor número de escamas placoideas por mm^2 en la región cefálica dorsal, cefálica ventral, lingual y palatina, seguida de *C. limbatus*, y *R. terraenovae*. En esta especie también fue posible detectar la presencia de almohadillas faríngeas en el 3°, 4° y 5° arco branquial.

Así mismo se determinó la correlación alométrica entre las medidas básicas del condrocáneo y la densidad de escamas placoideas en la región orofaríngea de *S. lewini*, reportándose por primera vez que la densidad de escamas depende de la longitud del neurocráneo en esta especie. Resulta evidente que el estilo de vida de estos organismos está estrechamente relacionada a los patrones morfológicos de las escamas placoideas que presentan. Estos patrones pueden verse influenciados por el tipo de alimento, los métodos de reproducción y la velocidad en la natación.



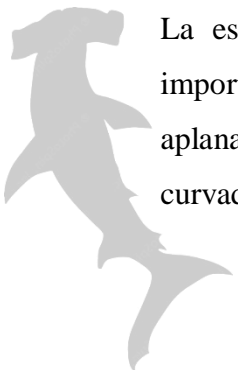
GENERALIDADES

INTRODUCCIÓN

Los Chondrichthyes, son un grupo de vertebrados gnatostomos acuáticos de respiración branquial, que incluye a los grupos vivientes de elasmobranquios (tiburones y rayas) y holocéfalos (quimeras); y un gran número de taxa extintos hace más de 400 millones de años. Los elasmobranquios (*elasmos*, lámina y *branchii*, branquias) son el grupo dominante de los chondrichthyes y se han distinguido tradicionalmente y de modo esquemático dos formas que corresponden a los dos superordenes. Los batoides o hipotremados (torpedos y rayas) que se caracterizan por presentar las hendiduras branquiales en la cara ventral del cuerpo, el borde anterior de la aleta pectoral fusionada lateralmente al cuerpo constituyendo el disco en la mayoría de las especies y la cintura pectoral unida dorsalmente. Por otro lado los selachimorfos o pleurotremados (tiburones) tienen hendiduras branquiales localizadas a los costados del tronco, el borde anterior de la aleta pectoral está separado de la cabeza y no presentan la unión dorsal de la cintura pectoral (Nelson, 2006).

Ambos grupos se distinguen de otros vertebrados ictiopsidos en que presentan un esqueleto cartilaginoso recubierto por hueso pericondral que se conserva hasta la edad adulta; presentan de cinco a siete hendiduras branquiales pares independientes para cada saco branquial de la región faríngea y las aletas dorsales y las espinas, si se presentan; son rígidas. Así mismo el palatocadrado no está fusionado al cráneo (suspensión amfistilica o hiofistilica); la canasta branquial generalmente se posiciona detrás del neurocráneo; la dentición es abundante y se reemplaza continuamente. Usualmente presentan espiráculo, y el cuerpo se encuentra cubierto por un exoesqueleto cartilaginoso constituido por dentículos dérmicos recubiertos de esmalte, denominados “escamas placoideas” (Alvarez, 1978; Hamlet, 1999).

La escama placoidea, odontodo o dentículo dérmico, es el producto estructural más importante de la dermis en tiburones. Esta escama consiste de una placa basal rectangular y aplanada embebida en la capa superficial de la dermis que lleva un dentículo acerado y curvado en dirección caudal (Figura 1). La base ensanchada del dentículo está formada de



dentina acelular penetrada por fibras de colágeno llamadas fibras de Sharpey que unen el dentículo al tejido conjuntivo compacto subyacente. Las espinas protuberantes de las escamas placoideas le dan al tiburón su característica piel áspera y consisten de una capa cónica de dentina de canalículos rectos cubierta de una capa dura y transparente de esmalte. La cavidad pulpar está contenida dentro del dentículo y la placa basal está perforada por una o más aberturas por donde los vasos sanguíneos, nervios y canales linfáticos entran hacia la cavidad. La escama es semejante a los dientes propiamente dichos de la boca del animal (Pirlot, 1976).

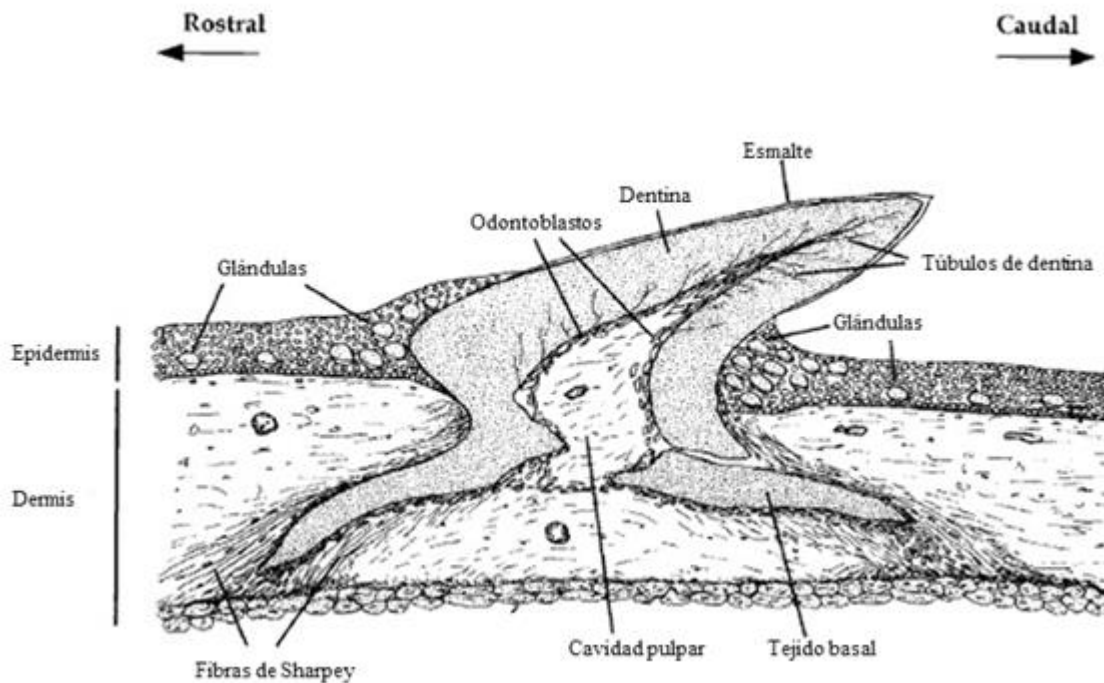
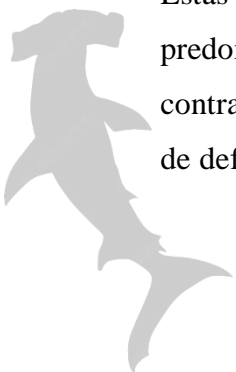


Figura 1: Características histológicas de una escama placoidea y sus tejidos circundantes (Miyake *et al.*, 1990).

Estas escamas se presentan en muchas formas diferentes de acuerdo a su función predominante. Dentículos redondeados forman una estructura fuerte usada para proteger contra la abrasión. Los dentículos con espinas y mucus pueden proveer de un mecanismo de defensa ante depredadores y ectoparásitos. Dentículos con surcos en la corona alteran el



flujo hidrodinámico y reducen la resistencia hidrodinámica. Varias formas, particularmente las que afectan el flujo hidrodinámico, pueden estar asociados con órganos sensoriales, por ejemplo a fotóforos. Otro tipo de dentículos asisten durante el proceso de eclosión y son posteriormente mudados y reemplazados con formas diferentes en la etapa adulta. Inicialmente las escamas placoideas se forman bajo la piel y posteriormente irrumpen en la superficie corporal, no tienen la capa basal ósea de las escamas de los peces y pueden quedar cercanas una con otra o apartadas, pero difícilmente se solapan excepto en sitios en los que protegen la línea lateral. Estas estructuras no crecen indefinidamente pero pueden ser reemplazadas con la edad, al desgastarse o perderse (Ostrand, 2000).

Un tipo particular de escamas placoideas son los dentículos orofaríngeos cuya función es poco conocida. Se ha propuesto que pueden asistir en la trituración del alimento, para proteger la orofaríngea de la abrasión, o para actuar como un rastrillo branquial como el que presentan los tiburones ballena. A la inversa, los dentículos orofaríngeos pueden ser simplemente estructuras vestigiales sin una función específica (Imms, 1905). Por otro lado estas estructuras son conocidas por exhibir la misma variación intraespecífica e interespecífica que las localizadas en la superficie corporal ya que se encuentran organizados en patrones específicos que son de importancia potencial en sistemática. Los dentículos orofaríngeos de tiburones son de mayor importancia ya que en algunos organismos (como en algunos galeodos) participan en la formación de estructuras especializadas (almohadillas faríngeas) aparentemente análogas a huesos dermales de teleostomos (placas dentales faríngeas superior e inferior) (Nelson, 1970). El estudio de los dentículos orofaríngeos aporta información sobre las relaciones filogenéticas del grupo así como también refuerza el modelo sobre el origen de las escamas placoideas a partir de dientes faríngeos que migran hacia el exterior.



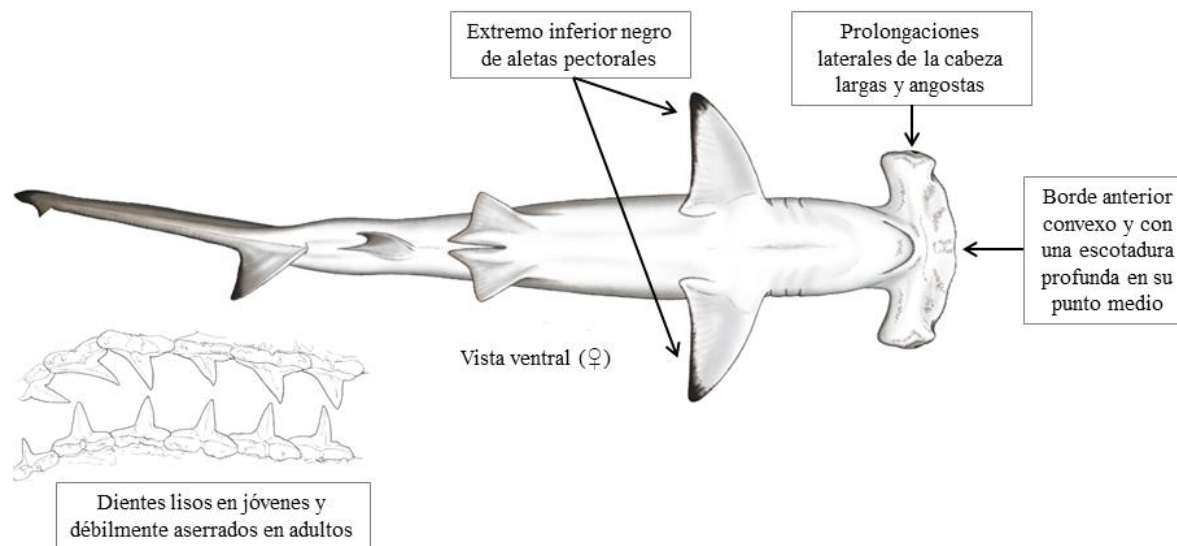
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Dentro de los selaceos carcarhiniformes se encuentra la familia Sphyrnidae (Gill, 1872). Los sphyrnidae son organismos vivíparos placentarios de reproducción anual que habitan en mares templados o tropicales a 22°C. Se encuentran desde la superficie oceánica hasta los 275 m de profundidad y en general son organismos de natación activa. Presentan una depresión dorso-ventral en la cabeza, de ahí que a estos organismos se les nombre actualmente como tiburones “martillo, cabeza de gorra o pala” (Alvarez y López, 2003). Existen varias razones que se han dado para la evolución de la expansión lateral de la cabeza, incluyendo la de incrementar la agilidad al girar el cuerpo, un área extendida para la percepción sensorial, la separación de los órganos sensoriales y un mejor manejo de la presa. Se alimentan de crustáceos, cefalópodos, peces óseos y otros elasmobranquios. Son económicamente importantes como alimento y en juegos de pesca. La familia comprende al menos nueve especies que en su mayoría habitan en Norteamérica.

La especie, *Sphyrna lewini* (Cuvier, Griffith & Smith, 1834), conocida como “cornuda común” es el miembro más abundante de la familia cuyo tamaño varía de los 250 cm a los 420 cm. Es un activo nadador que efectúa amplias migraciones permaneciendo generalmente en aguas costeras en etapa juvenil. El dorso es de color gris amarronado u oliváceo y el vientre es de coloración blanca. Presenta ocho aletas bien desarrolladas siendo las aletas pectorales de pequeñas dimensiones con el extremo inferior de color negro y las aletas pélvicas no presentan forma de hoz. La depresión dorso-ventral de la cabeza se caracteriza por una escotadura en el margen anterior con dos lóbulos cefálicos, en ella encontramos un par de ojos en su extremo más lateral. En su parte ventral cefálica se encuentra un par de nostrilos y carecen de un espiráculo como en los otros carcarínidos (Figura 2). Tiene una suspensión mandibular del tipo hiolística, en donde el palatoc cuadrado (mandíbula) se articula con el cráneo, los dientes son triangulares con bordes regulares o aserrados y similares en ambas mandíbulas. (Castro, 2011).



SISTEMÁTICA (Compagno <i>et al.</i> , 2005)	
Reino:	Animalia
Phyllum :	Chordata
Subphyllum:	Craniata
Infraphyllum:	Vertebrata
Clase:	Chondrichthyes
Subclase:	Elasmobranchii
Orden:	Carcharhiniformes
Familia:	Sphyrnidae
Especie:	<i>Sphyrna lewini</i> (Cuvier, Griffith & Smith, 1834)



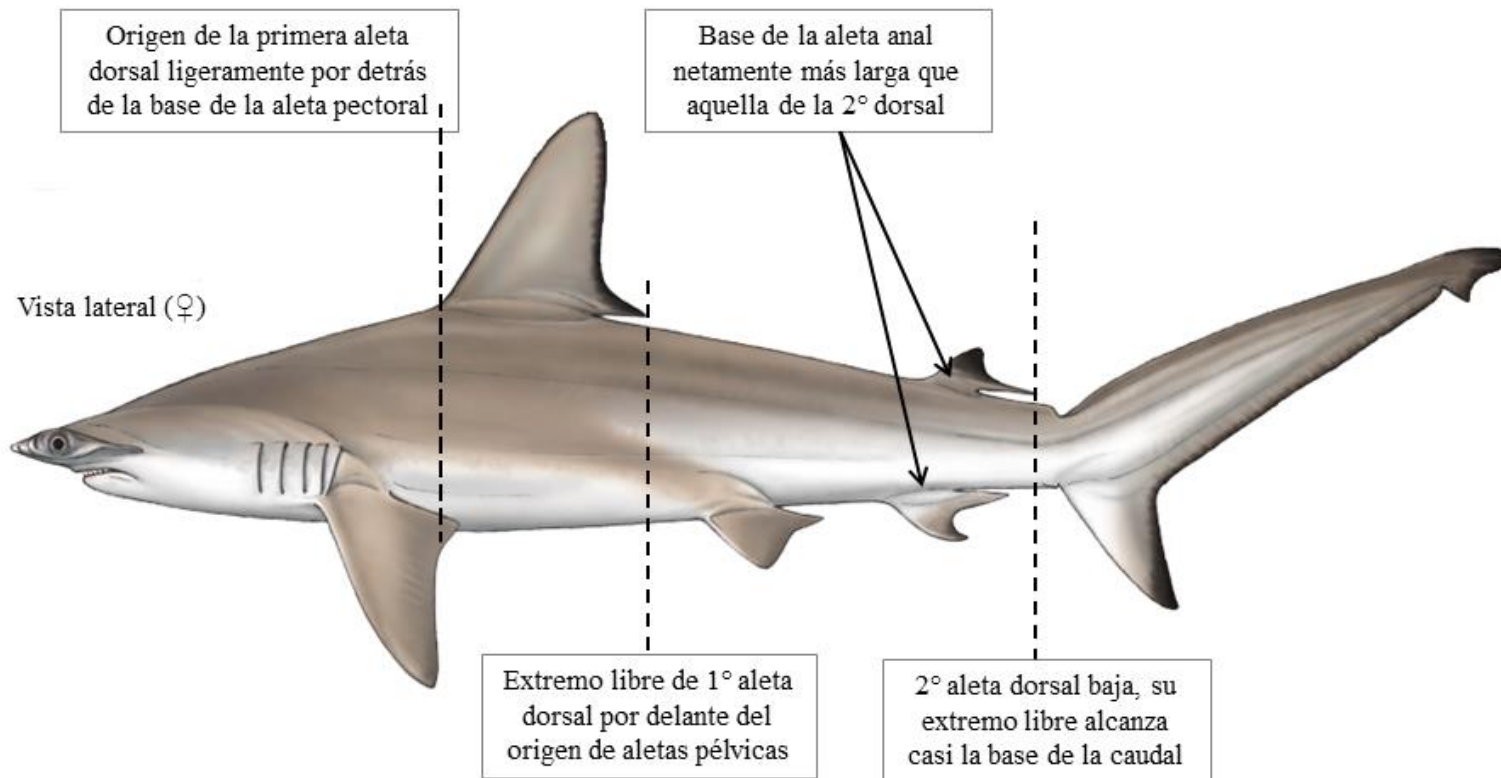


Figura 2. *Sphyrna lewini* (Cervigón *et al*, 1992)

ANTECEDENTES

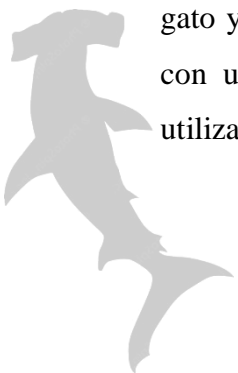
A continuación se presentan cuatro tipos de antecedentes. Primero los referentes a la técnica de tinción, posteriormente los referentes a dentículos dérmicos, dentículos faríngeos y las controversias evolutivas.

TÉCNICA DE TINCIÓN

Dawson (1926) desarrolló un método progresivo de tinción selectiva del esqueleto en especímenes de rata transparentados que consistía en fijar al organismo en alcohol al 95% por 48-96 horas. Luego someterlo a digestión en una solución de KOH al 1% y posteriormente transferirlo a una solución diluida de alizarina en KOH para su tinción. Completada la transparentación procedió a colocar el espécimen en una solución Mall y después en un tren de glicerina hasta el 100% de concentración. El éxito del proceso dependía de la obtención de un buen grado de transparentación antes de la tinción y tenía la ventaja de ser un método rápido que reducía los factores de error debido a la descalcificación del organismo.

Hollister (1934) realizó la transparentación y tinción de 3000 especímenes para el estudio del esqueleto de peces mediante la adaptación de viejas técnicas de transparentación con el uso de luz ultravioleta durante la transparentación y después de la tinción para la remoción de cualquier coloración propia del organismo. El método consistía en la fijación de los especímenes en 70% de alcohol, para su digestión se sometieron a KOH 1-4% y posteriormente su tinción con rojo de alizarina. Los especímenes fueron colocados en KOH 1-20% con la adición progresiva de glicerina para su conservación junto con un pequeño cristal de timol para evitar el crecimiento de moho.

Limpan (1935) Realizó la transparentación de embriones de rata, cerdo, humano, bovino, gato y pollo. Observó que los especímenes pueden ser transparentados más rápidamente y con una mínima maceración si son fijados en alcohol por 48-96 horas en vez de la utilización clásica de formaldehído.



Davis y Gore (1936) Realizaron la transparentación en pequeños vertebrados, principalmente reptiles y anfibios, así como peces, aves y embriones de mamíferos siguiendo la metodología de Hollister (1934). Recomendaron la fijación de organismos frescos en alcohol al 95% para resultados más satisfactorios así como su previa evisceración. Reconocieron que la concentración de rojo de alizarina propuesta por Hollister era ineficiente para anfibios y reptiles.

Cumley y colaboradores (1939) Hacen una revisión de algunas de las viejas técnicas de tinción y transparentación con varios tipos de animales y proponen modificaciones que parecen mejorar la calidad de los resultados. Obtuvieron buenos resultados al combinar la técnica de Schultze con la de Lundvall. Los embriones fueron fijados en alcohol al 95%, tratados con KOH 1%, teñidos con 1:10,000 rojo de alizarina S, clarificados con glicerina, deshidratados con alcohol y posteriormente transparentados en tolueno saturado con naftalina y aceite de anís.

Dingerkus y Lowell (1977) realizó la preparación de pequeños vertebrados transparentados después de que la tinción del cartílago con azul de alciano fue facilitada por la digestión con tripsina. Los especímenes estaban fijados en formaldehído, fueron lavados, despellejados y eviscerados. Posteriormente realizó la tinción en una solución con azul de alciano en ácido acético por 24-48 horas y mediante gradientes de alcohol (95%, 75%, 40% y 15%) fueron transferidos al agua destilada. El exceso de azul de alciano fue removido en un periodo de 3 semanas con cambios cada 2-3 días de tripsina al 1% en un tercio de borato de sodio saturado. Los tejidos óseos fueron teñidos después en una solución de rojo de alizarina en 0.5% de KOH. Finalmente conservó los especímenes mediante un gradiente de glicerina hasta quedar en glicerina pura con cristales de timol para evitar la formación de moho y bacterias. Recomienda esta técnica para especímenes que han sido fijados en formaldehído y alcohol por largos periodos de tiempo.



DENTÍCULOS DÉRMICOS

Muñoz (1985) realizó una comparación de dentículos dermales de muestras de piel pertenecientes a 34 especies de tiburones en base a la clasificación tipológica propuesta por Reif en 1982 en la que señala cinco funciones para los dentículos que corresponden con cinco morfologías bien definidas. Para su estudio se definieron los siguientes caracteres: densidad y longitud media de los dentículos, número de carenas, tipo de implantación (pedicelada o sentada) y presencia/ausencia de engrosamiento en el escudo. A partir de los resultados se definieron seis grupos de escualos agrupados tanto por su morfología denticular como por características comunes en su medio de vida. La clasificación topológica coincide con la de Reif, pero introduce importantes modificaciones. La reunión de seis tipos denticulares implica la existencia de fuertes convergencias morfológicas en líneas filogenéticas independientes.

Schaefer y Buitrago-Suárez (2002) realizaron un estudio sobre la morfología de odontodos y las características de la superficie dérmica de bagres andinos (Siluriformes, Astroblepidae) mediante observaciones basadas en histología y microscopía electrónica de barrido. Dentro de esta familia se encontraron dos tipos de dentículos dérmicos, los odontodos Tipo I se hallaron en todos los representantes de la superfamilia Loricarioidea en varias partes de cuerpo. Son grandes, cónicos y puntiagudos; y están asociados al hueso dermal mediante un anillo de tejido conjuntivo. Por el contrario, los odontodos Tipo II son más pequeños, redondeados menos densos y no están asociados a hueso dermal sino a estructuras epiteliales que aparentemente forman órganos mecanorreceptores. Estos fueron observados solamente en tres especies de astroblepidos y se presentan en formaciones densas de las barbillas maxilares. La presencia de odontodos del segundo tipo y su asociación con órganos epiteliales especializados, son únicos en los astroblepidos dentro de los siluriformes y pueden ser adaptaciones importantes a los arroyos torrenciales en los que habitan. Ambos tipos de odontodos son mudados y reemplazados periódicamente.



Meneses (2008) Realizó una correlación anatómica entre el exoesqueleto del tiburón martillo (*Sphyrna lewini*) y el pez guitarra (*Rhinobatus lentiginosus*) en la que observó diferencias morfológicas evidentes. Los dentículos de *S. Lewini* presentan cúspides y crestas que van aumentando de la porción cefálica a la caudal (de 3 a 5) y no observó diferencias significativas en cuanto al tamaño. En *R. lentiginosus* se presentan cúspides pero no crestas, siendo planas y uniformes en todo el cuerpo. En relación al tamaño hubo algunas diferencias significativas en las escamas de la región cefálica.

Serra-Pereira y colaboradores (2008) Analizaron los dentículos dérmicos de la región caudal del batoideo *Raja clavata* para su utilización en la determinación de la edad y crecimiento. Identificaron seis tipos de dentículos dérmicos en la porción caudal. Entre estas, las pequeñas espinas fueron las más apropiadas para la determinación de la edad debido a su posición fija, persistencia durante la esperanza de vida del organismo y su patrón de crecimiento en bandas. Basados en análisis en el borde, se verificó la deposición anual de las bandas. No se observaron diferencias en los parámetros de crecimiento entre sexos. La edad máxima estimada fue de 10 años para una hembra de 835 mm de longitud.

Crooks y colaboradores (2013) En base al conocimiento que se tiene sobre el dimorfismo sexual en los dentículos dérmicos de varias especies de elasmobranquios, realizaron un estudio en el tiburón gato (*Scyliorhinus canicula*) en el que revelaron que la longitud, anchura y densidad de dentículos dérmicos en machos y hembras adultas de esta especie presentan dimorfismo sexual en las áreas del integumento en donde los machos parecen morder y envolverse alrededor de las hembras (aleta pectoral, áreas posterior de la aleta pectoral, aleta caudal y cintura pélvica). No se encontraron diferencias significativas en las dimensiones de los dentículos dérmicos en otras áreas del cuerpo examinadas (cabeza, dorso y pedúnculo caudal). Este dimorfismo sexual podría ser una respuesta a la mordedura que sufre la hembra durante los procesos de cópula.

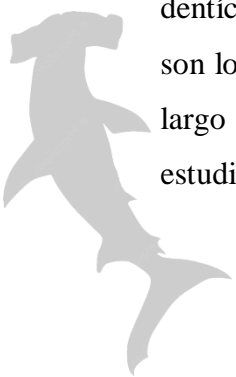


DENTÍCULOS ORO FARÍNGEOS

Nelson (1970) discutió sobre las principales tendencias filéticas en el arreglo de dentículos faríngeos en tiburones, en contraste con los conocimientos que se tienen sobre el esqueleto dermal de la cavidad bucofaríngea de otros vertebrados. Observó que dentro de la cavidad bucofaríngea de varios tiburones modernos, existe un desarrollo completo del esqueleto dermal consistiendo de numerosas escamas placoideas independientes sin crecimiento. Las reducciones secundarias en la extensión del esqueleto dermal son aparentes en algunos tiburones modernos. En otros, los dentículos faríngeos participan en la formación de estructuras especializadas aparentemente análogas a las placas faríngeas consolidadas de los teleostomos. Estas observaciones llevan a la hipótesis de que el esqueleto dermal de elasmobranquios modernos esta primitivamente subdividido en una condición micromérica. La relevancia de esta hipótesis es discutida en el contexto de la teoría comparativa del esqueleto dermal de vertebrados.

Zangerl y colaboradores (1993) Describieron la anatomía microscópica de la dentición en 9 géneros y 23 especies de elasmobranquios del paleozoico del orden Petalodontida. Con dos excepciones, las coronas de estos dientes están cubiertas con un tejido compuesto característico que Moy-Thomas llamó “dentina tubular” y por el cual proponen el término “ortotrabeculina”. La ortotrabeculina consiste de un componente hipermineralizado que sería homólogo a la ortodentica y trabeculina que rodea los canales vasculares de los tiburones modernos. En los costados de la corona de *Petalodus* se presenta el estado más primitivo de este tejido y discuten su desarrollo histogenético. En algunas especies de *Chomatodus* y *Tanaodus*, la ortotrabeculina también forma una estructura interna que puede extenderse del borde afilado de la corona a la vecindad de la base de diente.

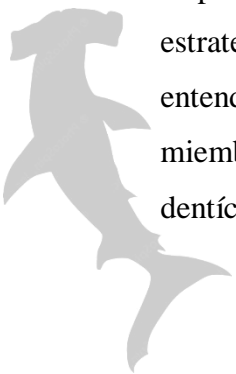
Johanson y Smith (2003) En base a una hipótesis alternativa que propone que series de dentículos organizados en los arcos faríngeos en el fósil de un pez telodonto (*Loganellia*) son los precursores de las familias dentarias que se desarrollan de una lámina dentaria a lo largo de la mandíbula, como ocurre en tiburones, acantodios y peces óseos; deciden estudiar a los Placodermos un grupo filogenéticamente basal de peces mandibulados.



Encontraron dentículos faríngeos organizados en la parte posterior de la cámara branquial e identificaron características estructurales en los dentículos de la lámina postbranquial similares a las descritas para series de dentículos faríngeos y series de dientes en *Loganellia* y en vertebrados mandibulados. Determinaron que estos dentículos tienen una organización y morfología diferentes a los tubérculos presentes en las placas óseas de la superficie del cuerpo, por lo que proponen que estos dentículos representan una parte denticulada del esqueleto visceral bajo la influencia de patrones de control faríngeos comparables a los presentes en otros vertebrados mandibulados y en *Loganellia*. Sus observaciones de placodermos son compatibles con la reciente propuesta que durante la evolución, los dientes faríngeos y la dentición se derivaron independientemente de los presentes en la dermis y que ninguno de estos derivó de los dentículos dérmicos durante la evolución de peces mandibulados.

Parga (2011) realizó una descripción de dentículos dérmicos en la región oro-faríngea de hipotremados mediante la técnica de transparentación y tinción con rojo de Alizarina. Demostrando la presencia de escamas placoideas en la región oro-faríngea de elasmobranquios hipotremados así como su principal asociación a los arcos branquiales, lo que corresponde a una nueva evidencia que entra en discusión con el origen de los dientes mandibulares. Además utilizó tres ejemplares pleurotremados: *Sphyrna tiburo*, *Sphyrna lewini* y *Carcharhinus limbatus* en los que observó cantidades notables de dentículos dérmicos en toda la región orofaríngea (paladar, región lingual, base de arcos branquiales y arcos branquiales).

Atkinson y Collin (2012) Utilizando métodos estereológicos y de microscopía electrónica de barrido, estudiaron la estructura, distribución y densidad de dentículos oro-faríngeos para seis especies de batoideos y cinco especies de seláceos pertenecientes a tres familias respectivamente. De igual forma, examinaron la estructura del dentículo con relación a las estrategias de alimentación y los tipos de presas de cada especie para obtener un mejor entendimiento de la función denticular. Encontraron que dentro de los batoideos, solo los miembros de la familia Rhinobatidae presentaron dentículos orales, sin encontrarse dentículos en las familias Gymnuridae o Dasyatidae. En contraste, todos los seláceos



presentaron dentículos orales excepto los miembros de la familia Orectolobidae. Los dentículos de los carcarrínidos presentaban una superficie con muescas y una espina central que se dirigía a la porción posterior de la boca. Esta adaptación denticular resulta beneficiosa para reducir la resistencia hidrodinámica, una ventaja para estas especies de nado libre que presentan una ventilación ram. Alternativamente los miembros de la familia Hemiscyllidae presentan dentículos bulbosos amplios que frecuentemente se traslapan, proporcionando una superficie dura para proteger el epitelio de la abrasión durante el consumo de presas de cuerpos duros. La distribución y el gran número de dentículos orales parecen comprometer espacialmente la capacidad gustativa pero proveen de una mayor sujeción de la presa mientras es manipulada dentro de la boca del animal.

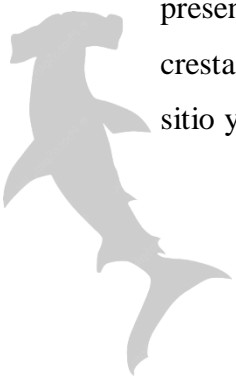


CONTROVERSIAS EVOLUTIVAS

Butler (1995) hace una revisión de algunas de las modificaciones en la ontogenia que parecen haber ocurrido durante la evolución de la dentición de vertebrados desde los agnatos hasta los mamíferos. Propone que los dientes probablemente se originaron de estructuras dérmicas, que secundariamente se diseminaron a la cavidad oral, en donde se asociaron al hueso. Concluye que los mamíferos son vertebrados atípicos en varios sentidos y que se requieren mayores estudios de vertebrados basales, especialmente peces.

Johanson y Smith (2005) presentaron nueva información sobre el origen filogenético de los dientes y dentículos faríngeos, enfocándose en el grupo de vertebrados mandibulados Placodermi y Gnatostomata. Intentaron establecer la secuencia filogenética en donde los caracteres de la dentición son expresados dentro de los placodermos, incluyendo los patrones de dentículos faríngeos, comparándolos a los observados en el telodonto *Loganellia scotica*. Utilizando la información de Placodermi, se pretendió resolver cuestiones fundamentales que conciernen a los orígenes evolutivos de la dentición en vertebrados mandibulados. La reciente comparación entre la serie de dentículos en la región faríngea de *L. scotica* que carece de mandíbula y aquellos presentes en tiburones sugiere una homología de esta serie de dentículos en los arcos branquiales.

Fraser y colaboradores (2010) realizaron una revisión sobre los datos recientes que pretenden esclarecer la escabrosa controversia de como los dientes surgieron en el transcurso de la evolución. Esencialmente muestran como los dientes pueden formarse de cualquier epitelio, sea este endodérmico u ectodérmico, o una combinación de ambos y que la expresión génica tanto de los dientes orales como faríngeos son notablemente similares. Se propone una nueva perspectiva que ve a los odontodos como estructuras que comparten una estructura molecular homóloga, unida por una serie de genes que determinan la presencia de un epitelio grueso y la colaboración de un ectomesénquima derivado de la cresta neural. De esta manera los odontodos migran de adentro hacia afuera, en cualquier sitio y en cualquier momento que esta serie de genes se ponen en contacto.



Fraser y Smith (2010) Cuestionaron el origen evolutivo del patrón de desarrollo de la dentición mediante nuevos datos morfológicos en la organización espacial de dentículos dérmicos en peces gato. Realizaron una revisión de datos recientes de expresión génica para el orden espacio-temporal durante el desarrollo de dientes para *Scyliorhinus canicula*, con dentición oral y faríngea, y *Neoceratodus forsteri*. Abordaron el tema de cómo estas estructuras (dentículos dérmicos y dentición) difieren en su organización espacio-temporal y en sus patrones de organización ya que al comparar la organización de los dentículos dérmicos de condriactios con la dentición de otros vertebrados, estos parecen no seguir un patrón ordenado estricto en tiempo y espacio a diferencia del remplazo de la dentición que en un sistema funcional ocurre en un orden preciso de tiempo y espacio. Sugieren que el mecanismo de disposición observada para la dentición oral y faríngea es único e independiente al sistema dermal, proporcionando así la evidencia de una evolución independiente de los odontos dermales y oro-faríngeos durante la diversificación de los vertebrados. Por lo tanto la incorporación de un patrón repetitivo ocurrió durante la evolución no desde la dermis sino desde mecanismos existentes en la orofaringe de grupos agnatos extintos.

Blais y colaboradores (2011) Proveen la primera evidencia de especímenes de acantodios del género *Ischnacanthus* de la localidad de MOTH (Man on the Hill) en las montañas Mackenzie en Canadá; de formas transicionales del devónico temprano. Las escamas cefálicas de estos organismos están modificadas hacia la proximidad de la boca, en estructuras similares a dientes. Describen tres morfologías distintas de escamas en mejillas y labios. Su detallada similaridad a la dentición sugiere que son el resultado de los mismos procesos de desarrollo y también de la existencia de un campo de expresión génica cerca del margen de la boca en donde las escamas pudieron haberse transformado en dientes. Estas formas transicionales ponen en duda una de las objeciones a la hipótesis del origen de la dentición de los vertebrados a partir de dientes dérmicos que migran hacia el interior.



JUSTIFICACIÓN

En vista de la relación directa al problema de la historia del esqueleto dermal en elasmobranquios e indirecta en la historia del esqueleto dermal de vertebrados, así como las escasas publicaciones sobre dentículos dérmicos en la región orofaríngea de pleurotremados; el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de la distribución, la densidad y la relación longitud-densidad de las escamas placoideas de la especie *Sphyrna lewini*.



OBJETIVOS

General

- Identificar y describir la presencia y densidad de las escamas placoideas en la región orofaríngea de *Sphyrna lewini*

Particulares

- Realizar la técnica de transparentación con doble tinción (azul de alciano y rojo de alizarina) y digestión con KOH para la identificación de escamas placoideas en la región orofaríngea en *Sphyrna lewini*.
- Determinar la distribución de las escamas placoideas en la región orofaríngea de *S. lewini*
- Comparar la densidad de escamas placoideas de la región orofaríngea con las escamas placoideas de la superficie cefálica de *S. lewini*.
- Determinar si existe correlación entre las medidas básicas del condrocraáneo y la densidad de las escamas placoideas en la región orofaríngea de *S. lewini*.



MÉTODO

Se obtuvieron las porciones cefálicas de 21 organismos pertenecientes a 3 especies: *Sphyrna lewini*, *Rhizoprionodon terraenovae* y *Carcharhinus limbatus* en el Laboratorio de Anatomía Animal Comparada de la Unidad de Morfología y Función (FES Iztacala). Los organismos estaban fijados con formaldehído al 4% neutralizado con borato de sodio por lo que se lavaron con agua corriente durante 24hrs. Después se realizó una disección a nivel de la región orofaríngea, la cual consiste en un corte frontal a nivel de los arcos branquiales (Figura 3), abriendo la región oro-faríngea hasta quedar expuesta.



Figura 3: Corte parasagital

Se utilizó la técnica de transparentación de Hollister (1934) y Dingerkus (1977), modificada por Gersenowies que consiste en la deshidratación por medio de un tren de alcohol etílico (40%, 60%, 80%, 90%, 100%). Una vez terminado el tren de alcohol se tiñó a los organismos con Azul de Alciano por 24 hrs. Al término, los organismos se rehidrataron con un tren inverso de alcohol etílico (100%, 90%, 80%, 60%, 40%). Completada la rehidratación, se tiñó con Rojo de Alizarina “S” al 0.1% por 24 hrs y se lavaron con agua corriente por otras 24 hrs.

Posterior a la tinción de las muestras, se procedió a identificar las zonas donde se presenten las escamas placoideas y se aisló el tegumento de la región orofaríngea y de la superficie cefálica. Éstas fueron regionalizadas en 10 porciones y capturadas en fotografías por medio de un microscopio estereoscópico marca “LaboMed” a un aumento de 30X.



Se contabilizó el número de escamas placoideas en una porción de 1 mm² utilizando el programa Photoshop CS5.

El resto de la porción cefálica de los organismos fue sometido a digestión alcalina con KOH al 4% a temperatura ambiente.

Se obtuvieron los condrocráneos de los organismos y se empleó un tren de glicerina (20%, 40%, 60%, 80%, 100%) para su conservación. Posteriormente se tomaron las medidas del condrocráneo con un vernier (Figura 4).

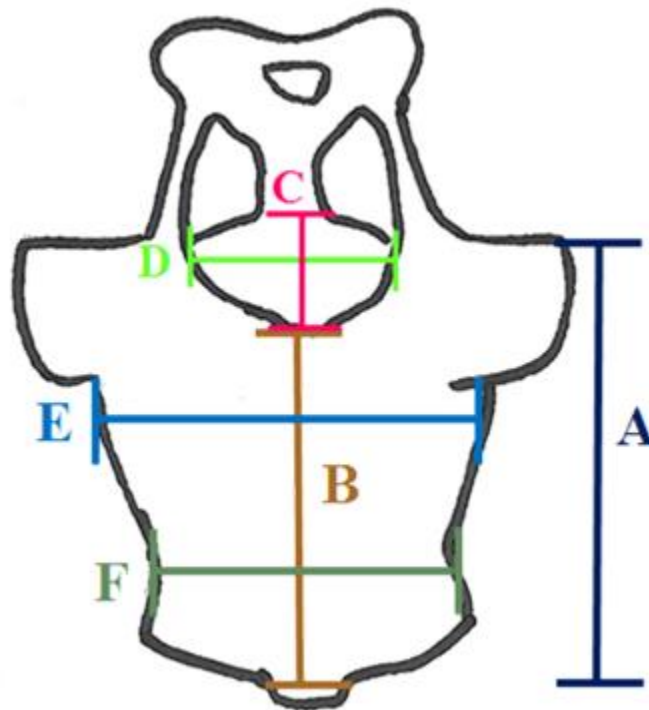


Figura 4: Medidas básicas del condrocráneo

Para el análisis estadístico de los datos se aplicó un análisis de varianza (ANOVA bifactorial) utilizando el programa “Statistica” Ver. 10.1.

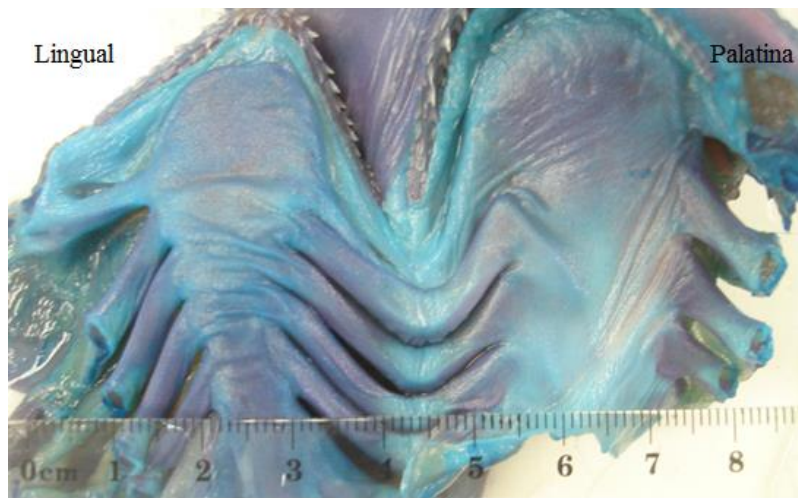
Finalmente se realizó el análisis alométrico entre la densidad de escamas placoideas de la región orofaríngea y las medidas básicas del condrocráneo para determinar el tipo de correlación existente entre estas dos estructuras.



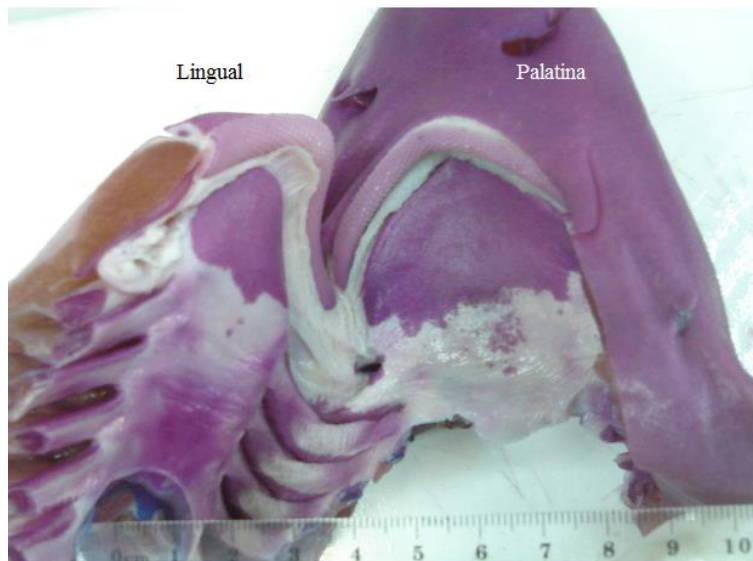
RESULTADOS

IDENTIFICACIÓN DE ESCAMAS PLACOIDEAS

Se obtuvieron 21 especímenes: 18 ejemplares de *Sphyrna lewini*, en etapa juvenil, 2 ejemplares a *Rhizoprionodon terraenovae* y 1 ejemplar de *Carcharhinus limbatus* en etapa adulta. El método de tinción permitió reconocer grandes cantidades de escamas placoideas recubriendo la superficie cefálica y la región oro-faríngea de los organismos (porciones lingual, palatina y en los arcos faríngeos) (Figura 5).

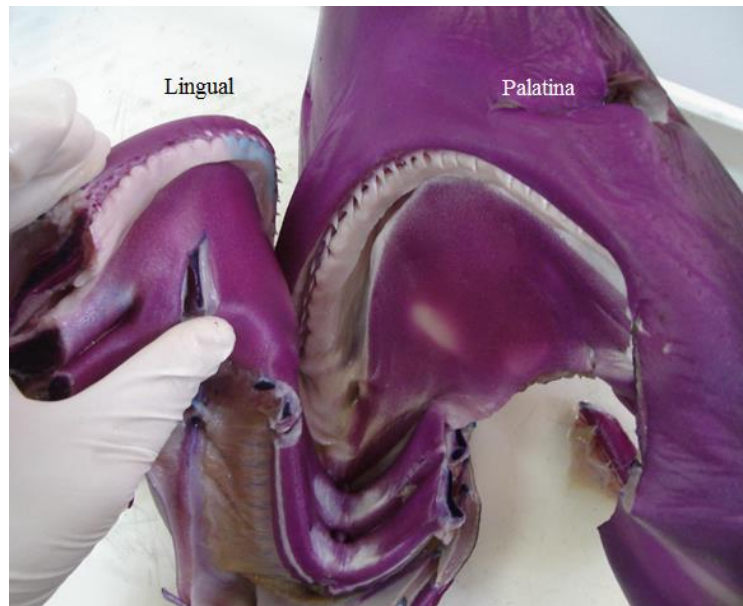


Sphyrna lewini



Rhizoprionodon terraenovae





Carcharhinus limbatus

Figura 5. Región orofaríngea teñida con azul de alciano y rojo de alizarina

CUANTIFICACIÓN DE ESCAMAS PLACOIDEAS

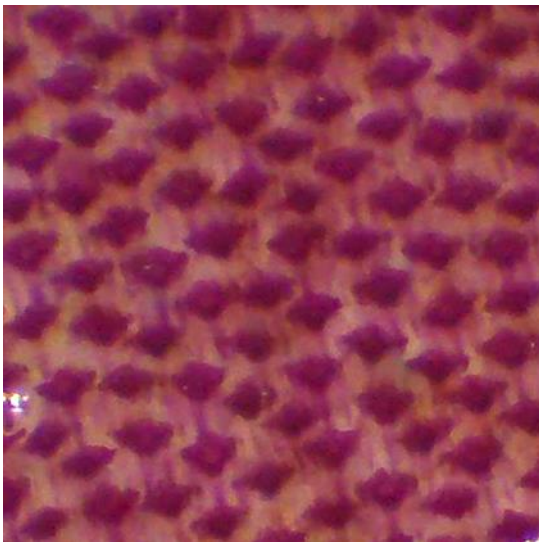
Se realizó la observación y toma de fotografías de las escamas placoideas del tegumento de la superficie cefálica (dorsal y ventral) (Figuras 6 y 7) y de la región orofaríngea (lingual y palatina) (Figuras 8 y 9), con lo que se obtuvieron 10 fotografías por región y por organismo con un total de 840 fotografías.

La cuantificación de escamas placoideas se realizó con ayuda de Photoshop CS5 utilizando cuadrantes de 1mm².

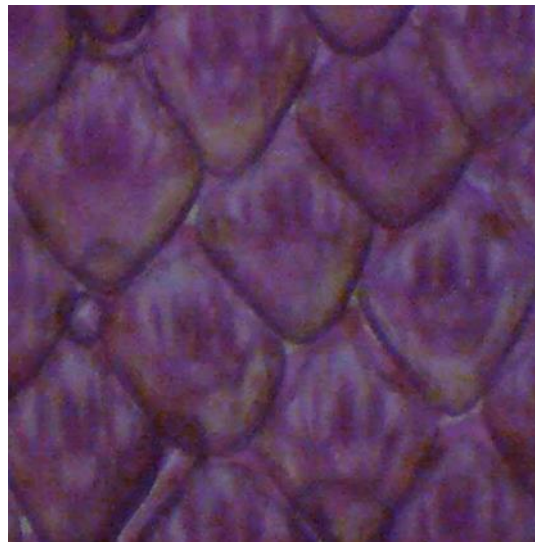
Los 840 datos fueron sometidos al análisis estadístico utilizando el programa “Statistica” Ver. 10.1.



PORCIÓN CEFÁLICA DORSAL



Sphyrna lewini



Rhizoprionodon terranovae

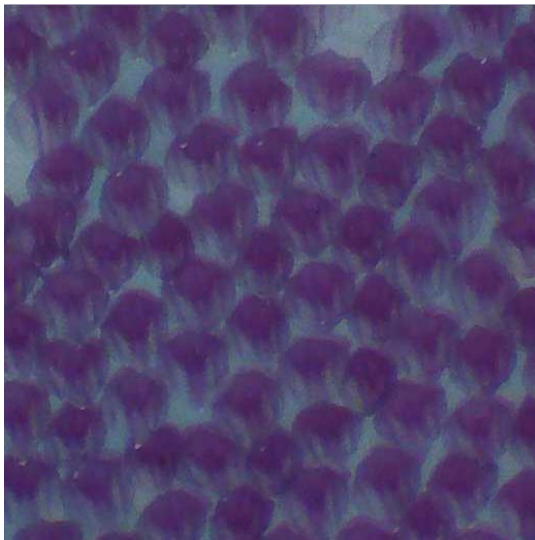


Carcharhinus limbatus

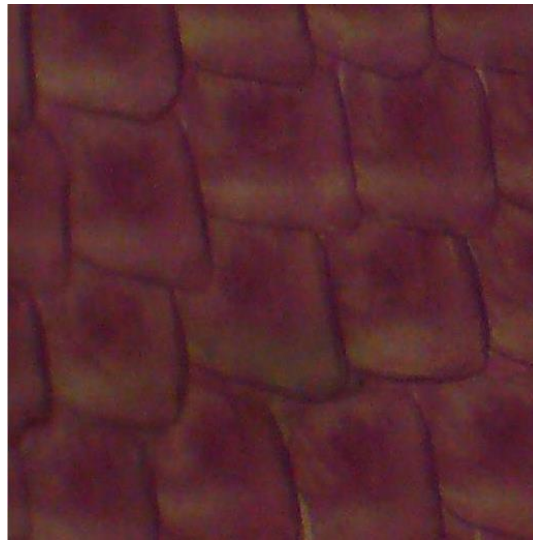
Figura 6: Observación de escamas placoideas en la porción cefálica dorsal de las 3 especies con microscopio estereoscópico (30x).



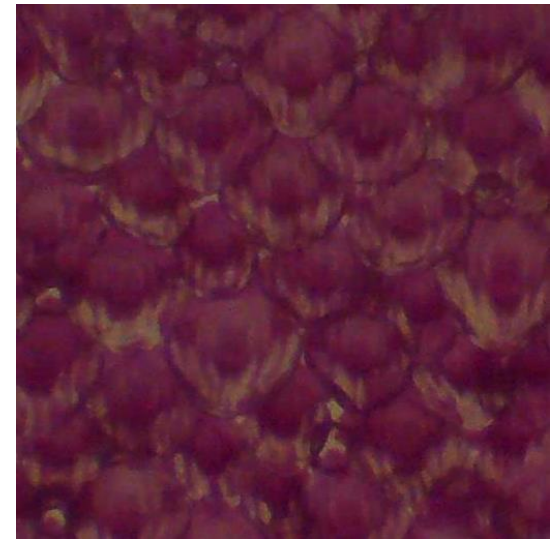
PORCIÓN CEFÁLICA VENTRAL



Sphyrna lewini

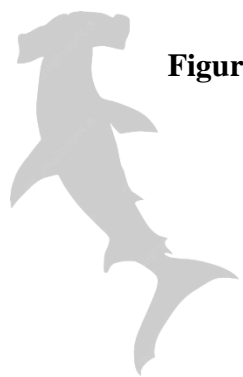


Rhizoprionodon terranovae

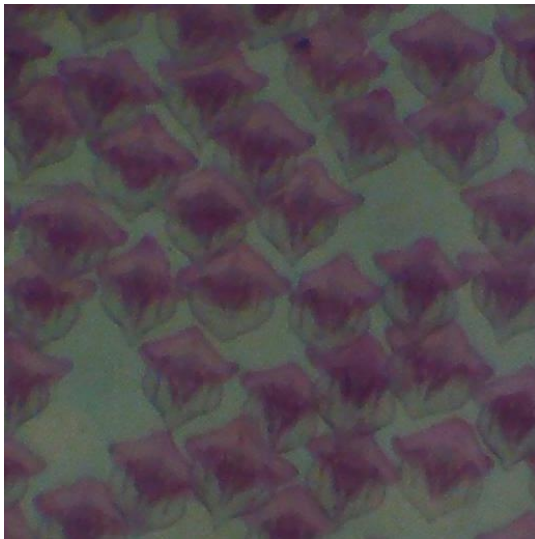


Carcharhinus limbatus

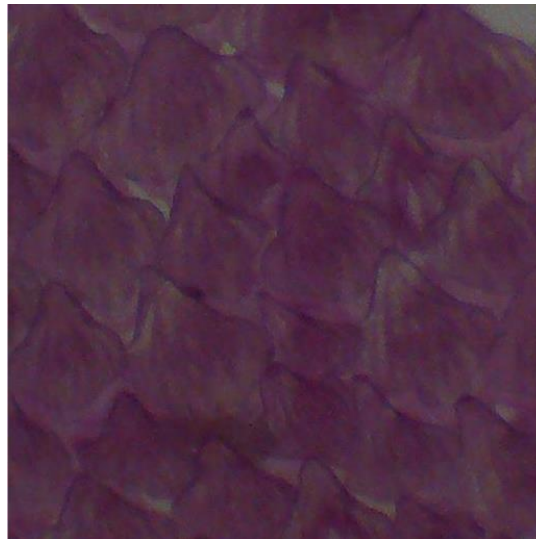
Figura 7: Observación de escamas placoideas en la porción cefálica ventral de las 3 especies con microscopio estereoscópico (30x).



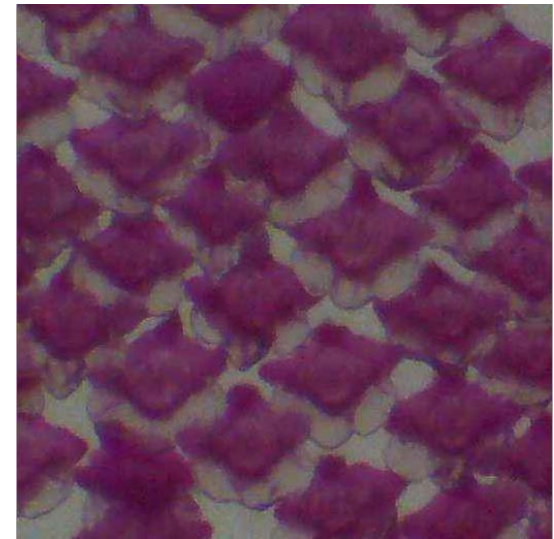
PORCIÓN LINGUAL



Sphyrna lewini

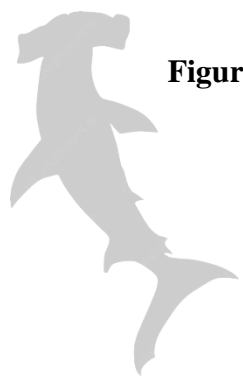


Rhizoprionodon terranova

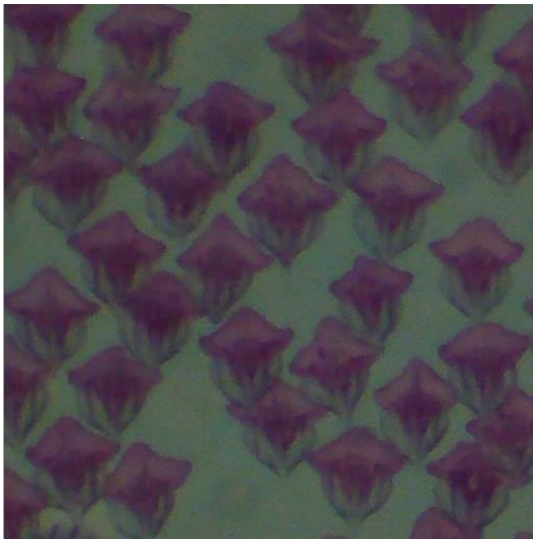


Carcharhinus limbatus

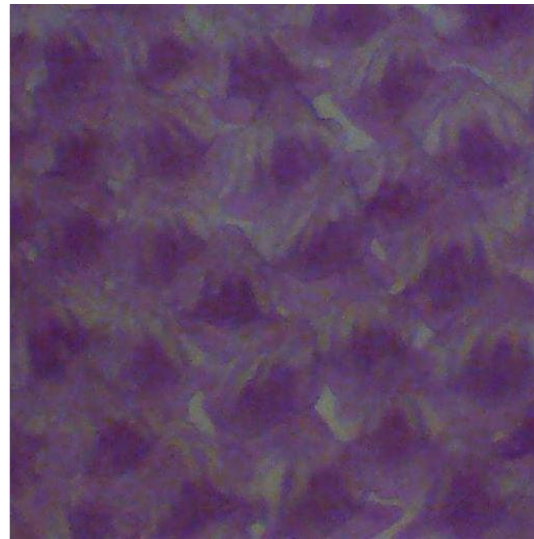
Figura 8: Observación de escamas placoideas en la porción lingual de las 3 especies con microscopio estereoscópico (30x).



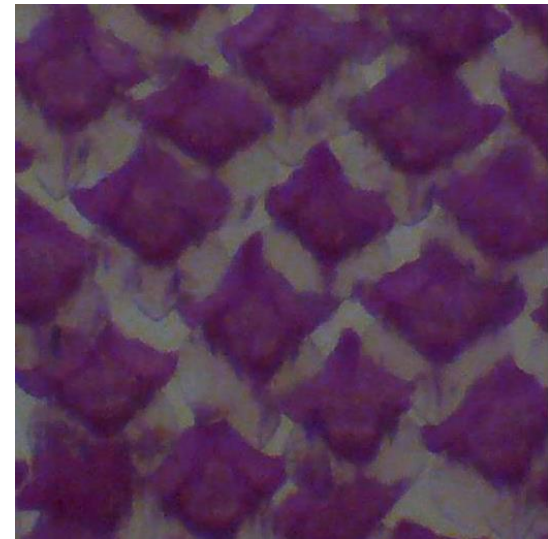
PORCIÓN PALATINA



Sphyrna lewini



Rhizoprionodon terranovae



Carcharhinus limbatus

Figura 9: Observación de escamas placoideas en la porción palatina de las 3 especies con microscopio estereoscópico (30x).



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de datos se aplicó un análisis de varianza (ANOVA bifactorial) utilizando el programa “Statistica” Ver. 10.1., contrastando las siguientes hipótesis:

H₀: $p \geq 0.05$ No hay diferencias en la densidad de dentículos entre las especies

H_a: $p \leq 0.05$ Hay diferencias en la densidad de dentículos entre las especies

Región Cefálica Dorsal

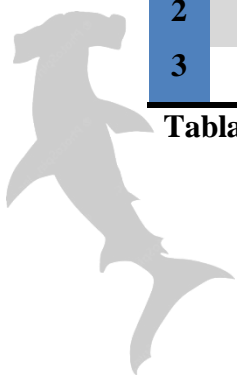
Univariate Tests of Significance for Cefálica Dorsal (Spreadsheet2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	P
Especie	85694,25	2	42847,12	527,362	0,001
Error	16818,35	207	81,25		

Tabla 1: Prueba de ANOVA realizada para la medición de escamas placoideas en la región cefálica dorsal de las 3 especies estudiadas.

El valor de probabilidad (p) en el ANOVA resultó ser menor a 0.05 por lo que hay evidencias suficientes de que existen diferencias significativas en la densidad de dentículos presentes en la región cefálica dorsal entre las 3 especies. Debido a que todos los datos fueron significativos, se procedió a realizar las pruebas LSD de Fisher

LSD test; variable Cefálica Dorsal (Spreadsheet2) Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = 81,248, df = 207,00				
	Especie	{1} - 76,417	{2} - 13,700	{3} - 30,600
1	<i>Sphyrna lewini</i>		0,0000001	0,0000001
2	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i>	0,0000001		0,0000003
3	<i>Carcharhinus limbatus</i>	0,0000001	0,0000003	

Tabla 2. Prueba LSD de Fisher para el área de la región cefálica dorsal.



En la prueba se observan que todas las probabilidades son menores a 0.05 por lo que podemos afirmar que *Sphyrna. lewini* posee la mayor densidad de dentículos dérmicos/mm² en la región cefálica dorsal (76,417), *Carcharhinus limbatus* posee una cantidad intermedia con (30,6) y el que posee menor densidad de dentículos es *Rhizoprionodon terraenovae* (13,7).

Región Cefálica Ventral

Univariate Tests of Significance for Cefálica Ventral (Spreadsheet2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	P
Especie	108838,6	2	54419,3	226,3443	0,001
Error	49768,4	207	240,4		

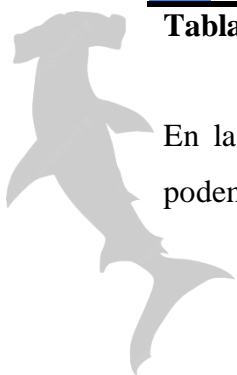
Tabla 3: Prueba de ANOVA realizada para la medición de escamas placoideas en la región cefálica ventral de las 3 especies estudiadas.

El valor de probabilidad (p) ANOVA resultó ser menor a 0.05 por lo que hay evidencias suficientes de que existen diferencias significativas en la densidad de dentículos presentes en la región cefálica ventral entre las 3 especies. Debido a que todos los datos fueron significativos, se procedió a realizar las pruebas LSD de Fisher

LSD test; variable Cefálica Ventral (Spreadsheet2) Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = 240,43, df = 207,00				
	Especie	{1} - 84,111	{2} - 13,150	{3} - 33,300
1	<i>Sphyrna lewini</i>		0,0000001	0,0000001
2	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i>	0,0000001		0,000943
3	<i>Carcharhinus limbatus</i>	0,0000001	0,000943	

Tabla 4: Prueba LSD de Fisher para el área de la región cefálica ventral.

En la prueba se observan que todas las probabilidades son menores a 0.05 por lo que podemos afirmar que *Sphyrna. lewini* posee la mayor densidad de dentículos



dérmicos/mm² en la región cefálica ventral (84,111), *Carcharhinus limbatus* posee una cantidad intermedia con (33,3) y el que posee menor densidad de dentículos es *Rhizoprionodon terraenovae* (13,15).

Región Lingual

Univariate Tests of Significance for Lingual (Spreadsheet2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	P
Especie	7478,66	2	3739,33	101,9932	0,001
Error	7589,15	207	36,66		

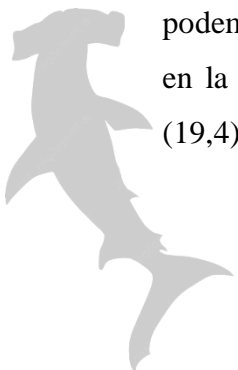
Tabla 5: Prueba de ANOVA realizada para la medición de escamas placoideas en la región lingual de las 3 especies estudiadas.

El valor de probabilidad (p) en el ANOVA resultó ser menor a 0.05 por lo que hay evidencias suficientes de que existen diferencias significativas en la densidad de dentículos presentes en la región lingual entre las 3 especies. Debido a que todos los datos fueron significativos, se procedió a realizar las pruebas LSD de Fisher

LSD test; variable Lingual (Spreadsheet2) Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 36,663, df = 207,00				
	Especie	{1} - 32,967	{2} - 14,450	{3} - 19,400
1	<i>Sphyrna lewini</i>		0,0000001	0,0000001
2	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i>	0,0000001		0,035989
3	<i>Carcharhinus limbatus</i>	0,0000001	0,035989	

Tabla 6. Prueba LSD de Fisher para el área de la región lingual.

En la prueba se observan que todas las probabilidades son menores a 0.05 por lo que podemos afirmar que *Sphyrna. lewini* posee la mayor densidad de dentículos dérmicos/mm² en la región lingual (32,967), *Carcharhinus limbatus* posee una cantidad intermedia con (19,4) y el que posee menor densidad de dentículos es *Rhizoprionodon terraenovae* (14,45).



Región Palatina

Univariate Tests of Significance for Palatina (Spreadsheet2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	P
Especie	8705,23	2	4352,61	120,2969	0,001
Error	7489,73	207	36,18		

Tabla 7: Prueba de ANOVA realizada para la medición de escamas placoideas en la región palatina de las 3 especies estudiadas.

El valor de probabilidad (p) en el ANOVA resultó ser menor a 0.05 por lo que hay evidencias suficientes de que existen diferencias significativas en la densidad de dentículos presentes en la región palatina entre las 3 especies. Debido a que todos los datos fueron significativos, se procedió a realizar las pruebas LSD de Fisher.

LSD test; variable Palatina (Spreadsheet2) Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 36,182, df = 207,00				
	Especie	{1} - 35,611	{2} - 16,650	{3} - 18,400
1	<i>Sphyrna lewini</i>		0,0000001	0,0000001
2	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i>	0,0000001		0,453397
3	<i>Carcharhinus limbatus</i>	0,0000001	0,453397	

Tabla 8. Prueba LSD de Fisher para el área de la región palatina.

En la prueba se observan que todas las probabilidades son menores a 0.05 por lo que podemos afirmar que *Sphyrna. lewini* posee la mayor densidad de dentículos dérmicos/mm² en la región palatina (35,611), *Carcharhinus limbatus* posee una cantidad intermedia con (18,400) y el que posee menor densidad de dentículos es *Rhizoprionodon terranovae* (16,650)



MEDICIÓN DE CONDROCRÁNEOS

Se aislaron los condrocráneos de la especie *S. lewini* y se tomaron las medidas básicas (Figura 4). Se procedió a realizar una prueba de correlación utilizando el programa “Statistica” Ver. 10.1., entre las seis medidas básicas del condrocráneo y el promedio de densidad de escamas placoideas por región (Tabla 9).

Se observa una alta correlación entre las longitudes y la densidad de escamas de todas las regiones a excepción de la longitud C que no presenta correlación con las regiones cefálicas dorsal y ventral; y la longitud D que no presenta correlación con la región cefálica ventral.



Correlations (Regression) Marked correlations are significant at $p < ,05000$ N=18 (Casewise deletion of missing data)

	Longitud A	Longitud B	Longitud C	Longitud D	Longitud E	Longitud F	Cefálica Dorsal	Cefálica Ventral	Lingual	Palatina
Longitud A	1,0000	,9725	,8269	,8007	,8937	,9280	,6210	,5345	,8459	,7338
	p= ---	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,006	p=,022	p=,0001	p=,001
Longitud B	,9725	1,0000	,7760	,7747	,8938	,9247	,6789	,5267	,8841	,7263
	p=,0001	p= ---	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,002	p=,025	p=,0001	p=,001
Longitud C	,8269	,7760	1,0000	,7364	,8819	,8616	,3547	,2627	,7073	,7190
	p=,0001	p=,0001	p= ---	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,149	p=,292	p=,001	p=,001
Longitud D	,8007	,7747	,7364	1,0000	,8715	,8643	,5490	,4036	,8283	,8674
	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p= ---	p=,0001	p=,0001	p=,018	p=,097	p=,0001	p=,0001
Longitud E	,8937	,8938	,8819	,8715	1,0000	,9788	,6295	,4833	,8995	,8521
	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p= ---	p=,0001	p=,005	p=,042	p=,0001	p=,0001
Longitud F	,9280	,9247	,8616	,8643	,9788	1,0000	,6280	,5022	,8920	,8129
	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p= ---	p=,005	p=,034	p=,0001	p=,0001
Cefálica dorsal	,6210	,6789	,3547	,5490	,6295	,6280	1,0000	,8902	,8361	,6956
	p=,006	p=,002	p=,149	p=,018	p=,005	p=,005	p= ---	p=,0001	p=,0001	p=,001
Cefálica Ventral	,5345	,5267	,2627	,4036	,4833	,5022	,8902	1,0000	,6593	,5092
	p=,022	p=,025	p=,292	p=,097	p=,042	p=,034	p=,0001	p= ---	p=,003	p=,031
Lingual	,8459	,8841	,7073	,8283	,8995	,8920	,8361	,6593	1,0000	,9126
	p=,0001	p=,0001	p=,001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,003	p= ---	p=,0001
Palatina	,7338	,7263	,7190	,8674	,8521	,8129	,6956	,5092	,9126	1,0000
	p=,001	p=,001	p=,001	p=,0001	p=,0001	p=,0001	p=,001	p=,031	p=,0001	p= ---

Tabla 9: Tabla de correlación entre los promedios de densidad de escamas placoideas y las medidas básicas del condrocraqueo de *S. lewini* ($p < 0.05$).



ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Varias especies de tiburones recientes presentan dentículos cubriendo gran parte de la superficie orofaríngea en lo que probablemente sea una condición primitiva dado que esta condición está reportada para *Loganellia*, un agnato (Johanson y Smith, 2005). Nelson, (1970) por otro lado, afirma que la reducción de escamas placoideas es una condición derivada. Observó que la reducción de dentículos en la región oro-faríngea parece ser más evidente en la porción posterior que en la anterior, y en la porción dorsal más que en la ventral. Esta observación corresponde en lo encontrado en las tres especies estudiadas, en las cuales existe un mayor confinamiento de escamas placoideas en la porción anterior (regiones lingual y palatina) en lo que constituye la cavidad oral. Llega a ser notable la reducción de escamas placoideas en la porción posterior de la orofaringe en *R. terraenovae* y en *S. lewini*, siendo esta última en menor proporción. En estas dos especies es posible observar que la porción ventral de la faringe presenta una mayor cantidad de escamas placoideas, estando prácticamente ausentes en la porción dorsal (Figura 5).

En *S. lewini* fue posible observar almohadillas faríngeas en los últimos 3 arcos branquiales (Figura 10) y en *C. limbatus* se presentan barras de dentículos branquiales que solo fue posible observar en los dos primeros arcos branquiales (Figura 11). Las almohadillas faríngeas parecen ser estructuras carnosas sujetas por ciertos elementos pares del endoesqueleto visceral. En peces óseos estas estructuras se componen de tejido muscular y ayudan a facilitar la transferencia del alimento desde la cavidad oral a la faringe en donde los dientes faríngeos trituran el alimento ej. Ciprínidos y catostómidos (Lewbart, 1998). Las almohadillas faríngeas aparentemente son análogas a las placas dentales superior e inferior de la faringe de teleostomos y podrían permitir el paso del alimento hacia el esófago en tiburones.

Aunque no existen datos moleculares, se han identificado barras de dentículos branquiales alineados en hileras del tercer al sexto arco faríngeo en la familia Carcharinidae (Asher y Müller, 2012)



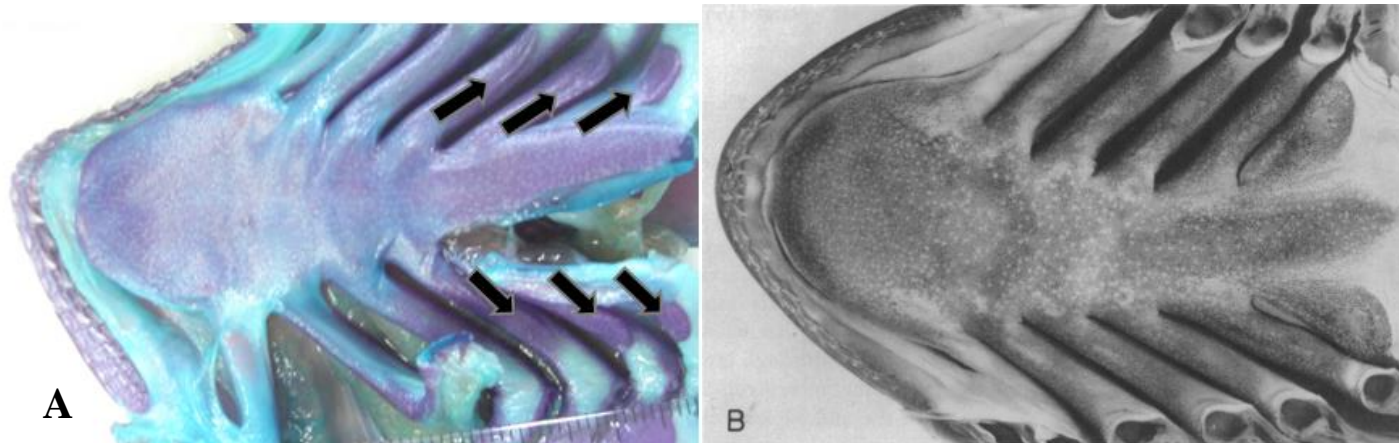


Figura 10. Almohadillas faríngeas de *Sphyrna lewini* (A) comparadas con un *Sphyrna zygaena* (B de Nelson, 1970), vista ventral.

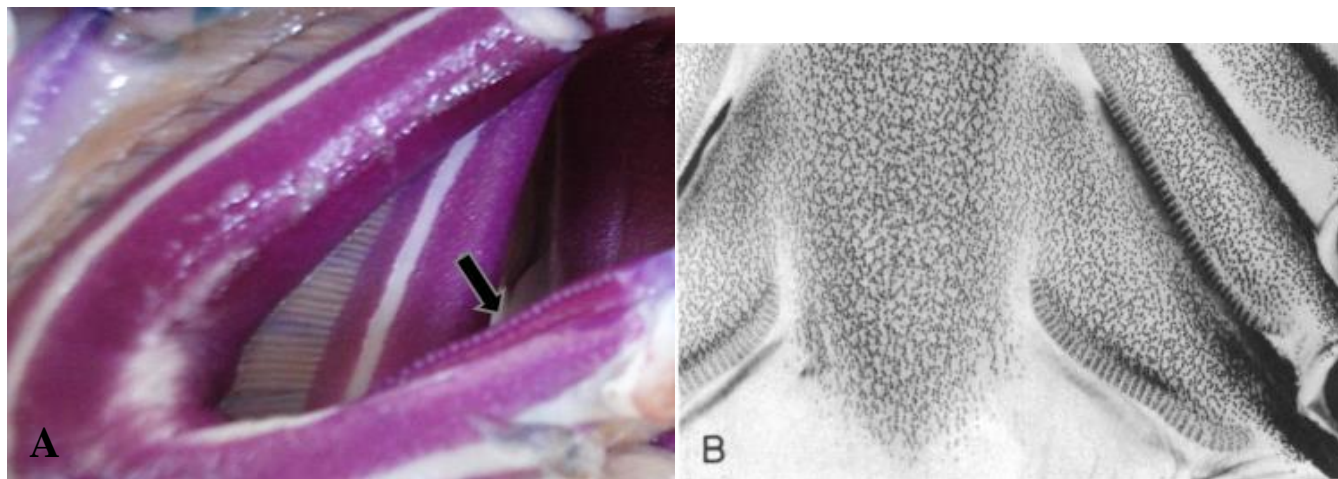


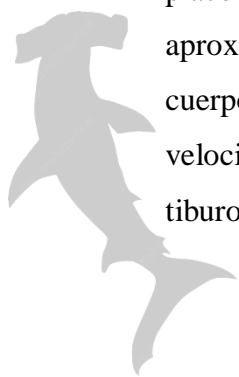
Figura 11. Barra de dentículos branquiales en *C. limbatus* (A) comparado con la vista ventral de un Carcarhinidae (B) de Nelson, 1970.



La observación de las escamas placoideas a través del microscopio estereoscópico puso en evidencia la variación intraespecífica en relación a su tamaño y morfología. Esta variación es más evidente si comparamos la región superficial y la región orofaríngea.

En la superficie cefálica de los organismos se observan escamas más compactas y alargadas (Figuras 5 y 6). Este arreglo y morfología posiblemente esté muy relacionada a su estilo de vida. Las tres especies están clasificadas como organismos de natación activa de la zona nerítica marina. En general, los tiburones de natación activa llegan a presentar dentículos pequeños, delgados, ligeros y están densamente arreglados de una manera similar al de una colmena. Kimbley en 2013, bajo esta premisa, presenta una tabla comparativa de las medidas del ancho y largo de las coronas de especies de nado rápido, nado intermedio y nado lento de tiburones. *S. lewini* llega a presentar coronas de 137-297 μ de ancho por 173-319 μ de largo, *R. terranova* 170-355 μ de ancho por 225-350 μ de largo y *C. limbatus* de 311-396 μ de ancho por 254-344 μ de largo. En este trabajo, las medidas de las coronas de *S. lewini* fueron de 139 μ de ancho por 205 μ de largo, de *R. terranova* 246 μ de ancho por 287 μ de largo y de *C. limbatus* 279 μ de ancho por 336 μ de largo. Si estos datos se los compara con tiburones de actividad pasiva, generalmente organismos epibentónicos, estos presentan una distribución poco compacta, con dentículos grandes, gruesos y pesados para protección como la especie *Ginglymostoma cirratum* (tiburón nodriza) con dentículos con coronas de 531-566 μ de ancho por 539-599 μ de largo, que duplican las proporciones de las coronas de los tiburones de natación activa.

La larga historia evolutiva de los elasmobranquios se caracteriza por el desarrollo de atributos anatómicos que parecen favorecer el movimiento con el menor costo energético posible. La morfología de las escamas tiene una función aerodinámica por lo que a diferencia de las escamas planas de los peces óseos, la forma particular de la escama placoidea, con crestas paralelas, ayuda a reducir la resistencia viscosa del fluido aproximadamente en un 8-10%, disminuyendo de esta manera la turbulencia a lo largo del cuerpo del tiburón. El tamaño y espaciado de los surcos y crestas son indicativos de la velocidad a la que el tiburón puede nadar, con un menor espacio entre las crestas en tiburones de natación rápida. En estudios con hidrófonos han detectado una menor fuente



de sonido de tiburones que de peces óseos, sugiriendo que la disminución en la turbulencia mejora la cautela en tiburones (Moss, 1984, Lang *et al.*, 2012).

Si pasamos a observar las escamas placoideas de la región orofaríngea (Figuras 7 y 8) hay una disminución evidente en el tamaño, la forma de diamante alargado cambia a uno más corto, ancho y puntiagudo, y hay una menor compactación de las escamas entre sí, lo que quizás se deba a la presencia de papilas gustativas en las porciones lingual y palatina (Figura 12). En estas especies las escamas de la orofaríngea están orientadas con las espinas apuntando en dirección posterior de la cavidad bucal. Al igual que las escamas de la superficie, esta conformación ayuda a reducir la resistencia del fluido en la orofaríngea de estas especies que se caracterizan por tener un mecanismo de respiración por medio de ventilación forzada (ram). Es decir, estos organismos deben de nadar con la boca abierta para poder extraer el oxígeno del agua que pasa a través de sus branquias.

La orientación de igual forma podría incrementar la fricción y el agarre de las piezas durante la manipulación de la presa en la boca, además de proveer protección a la dermis de la orofaríngea con presas con exoesqueleto duro y abrasivo.



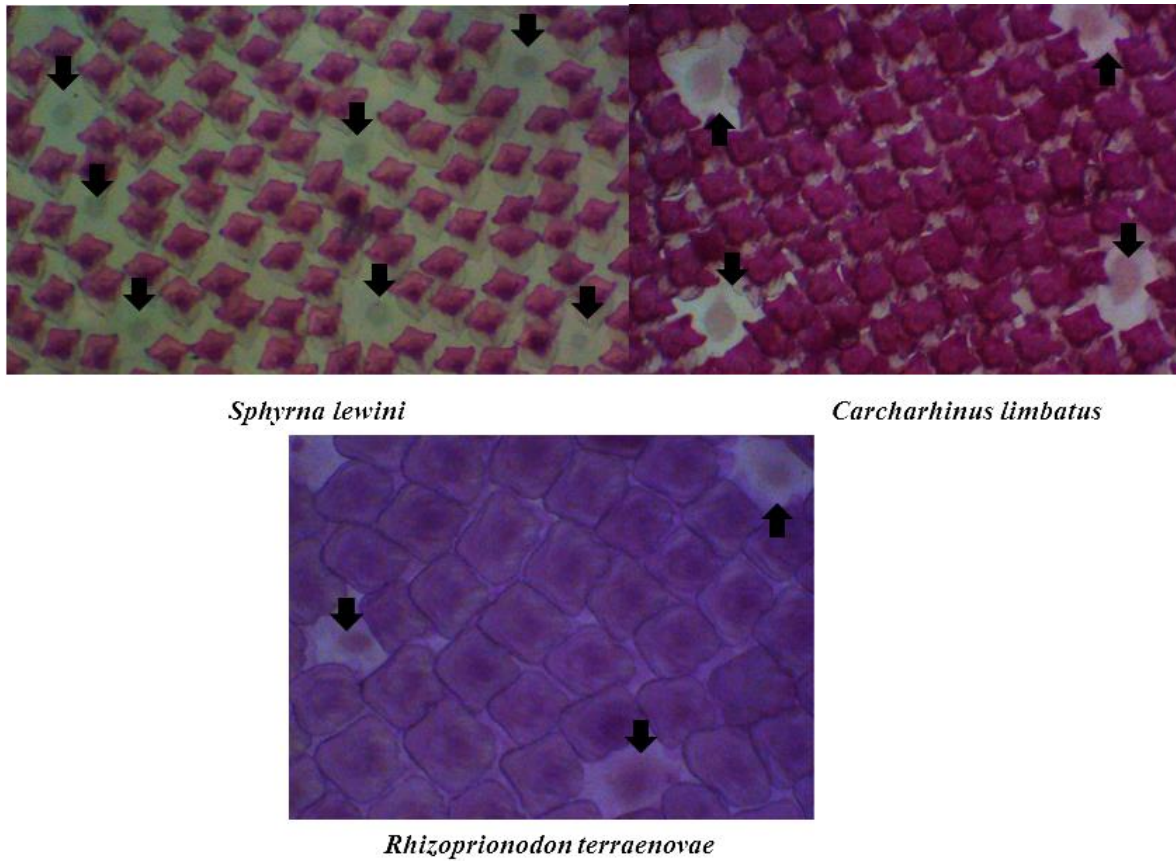
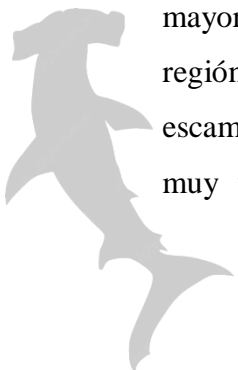


Figura 12: Escamas placoideas rodeando papilas gustativas (señaladas con una flecha) en porciones lingual y palatina.

La cuantificación de dentículos dérmicos arrojó resultados de ANOVA en las cuatro regiones (cefálica dorsal, cefálica ventral, lingual y palatina) que mostraron evidencias suficientes ($p < 0.05$) de que existen diferencias significativas en la cantidad de dentículos entre las 3 especies (Tablas 1, 3, 5 y 7). Para determinar cuáles pares de medias son las que difieren significativamente, se calculó la diferencia mínima significativa (prueba de Fisher o LSD).

La superficie cefálica (dorsal y ventral) (Tablas 2 y 4) de *S. lewini* y *C. limbatus* posee un mayor número de escamas placoideas, casi duplicando en densidad a las presentes en la región orofaríngea (Tablas 6 y 8). Sin embargo *R. terraenovae* posee una mayor densidad de escamas placoideas en la orofaríngea que en la superficie del cuerpo, esto puede deberse a la muy variada y diversa alimentación que tiene esta especie, ya que consume peces

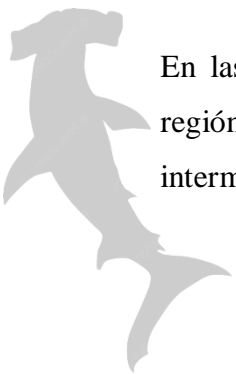


teleósteos (67%), crustáceos (37%), moluscos (8%) y otros elasmobranquios (2.5%). En comparación con *C. limbatus* cuya alimentación es principalmente de peces teleósteos (94%) (Hoffmayer y Parsons 2003) y en *S. lewini* de cefalópodos (49%) y peces óseos (33%) (Torres-Rojas, 2006). Por lo tanto *R. terranovae* probablemente requiera de una mayor protección en la región orofaríngea ya que sus presas presentan exoesqueletos duros.

En relación al número de escamas placoideas de la porción cefálica dorsal y ventral (Tablas 2 y 4) resulta ser mayor en la porción ventral en *S. lewini* y *C. limbatus* que en la porción dorsal. La diferencia existente entre la porción dorsal y ventral en *R. terranovae* es mínima, por lo que podría decirse que posee un número uniforme de escamas en la porción cefálica. Que la densidad de escamas sea mayor en la porción ventral podría estar relacionado a la posición que ocupa la abertura bucal en estos organismos, la cual requiere de protección ante los métodos defensivos de sus presas. De igual manera durante el periodo reproductivo, es común la presencia de cicatrices de mordeduras y laceraciones tanto en machos como en hembras debido a la conducta de machos de morder y envolverse alrededor de la hembra durante la cópula (Rocha, 2008; Crooks *et al.*, 2013).

En cuanto al número de escamas placoideas en la porción orofaríngea (Tablas 6 y 8) la tendencia es a poseer una mayor densidad de escamas placoideas en la porción del paladar. Esto resulta evidente si consideramos que en la porción lingual se encuentra una gran cantidad de papilas gustativas (Figura 12). El promedio de densidad de escamas entre *C. limbatus* y *R. terranovae* resulta ser muy similar en las porciones palatina y lingual. Atkinson y Collin (2012) reportaron que el número de papilas gustativas presentes en los carcarínidos son unas de las más altas registradas para elasmobranquios con 9000-12000 papilas gustativas en comparación a las 2000-4000 en otras especies. Sin embargo, el porcentaje de cobertura de papilas gustativas en carcarínidos es una de las más bajas registradas con 0.9%-1.8% (en contraste al 2.8% de otras especies), en donde el diámetro de las papilas gustativas se ve reducido debido al alto número de escamas placoideas.

En las 3 especies, *S. lewini* posee el mayor número de dentículos dérmicos/mm² en la región cefálica dorsal, ventral, lingual y palatina, seguida de *C. limbatus* con cantidades intermedias y *R. terranovae* como el que posee la menor cantidad de escamas. Resulta



evidente que el estilo de vida de estos organismos está estrechamente relacionada a los patrones morfológicos de las escamas placoideas que presentan, ya sea debido a su alimentación, reproducción y tipo de natación.

En cuanto a la correlación entre las medidas básicas del condrocráneo y la densidad de escamas placoideas de la región orofaríngea (Tabla 9); estos resultados nos indican que la densidad de escamas placoideas depende de la longitud del neurocráneo, hecho que nunca había sido reportado previamente.



CONCLUSIONES

El método de doble tinción con azul de alciano y rojo de alizarina permitió identificar la presencia de escamas placoideas recubriendo toda la región orofaríngea de *Sphyrna lewini*, en la que se observa una tendencia al confinamiento de escamas en la porción anterior de la cavidad oral. También fue posible detectar la presencia de almohadillas faríngeas en el 3°, 4° y 5° arco branquial.

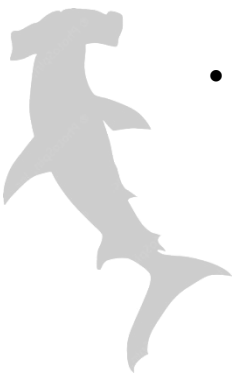
Existe una mayor densidad de escamas placoideas por mm² en la superficie cefálica, duplicando por mucho a las presentes en la región orofaríngea. La porción cefálica ventral fue la que presentó la mayor densidad de escamas (84,111) y de la región orofaríngea, la porción palatina tiene una mayor densidad de escamas placoideas (35,611).

Existe una correlación alométrica entre las medidas básicas del condrocráneo y la densidad de las escamas placoideas en la región orofaríngea de *S. lewini* y se reporta por primera vez que la densidad de escamas depende de la longitud del neurocráneo.

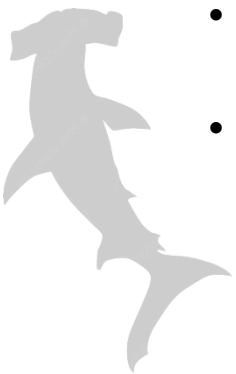


BIBLIOGRAFÍA

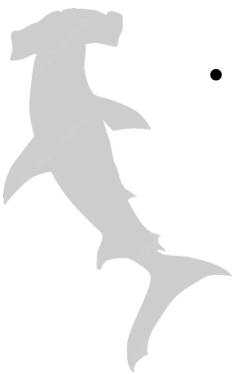
- Alvarez del Villar, J. (1978). Los cordados, origen, evolución y hábitos de los vertebrados. 2º Ed. C.E.C.S.A. México. pp. 57-76.
- Alvarez, F.P. and López, A.E.C. (2003). Zoología Aplicada. Díaz de Santos. España. 488 p.
- Asher, R.J. and Müller, J. (2012). From clone to bone: the synergy of morphological and molecular tools in paleobiology. Cambridge University Press. U.K. 387 p.
- Atkinson, C.J.L. and Collin, S.P. (2012). Structure and topographic distribution of oral denticles in elasmobranch fishes. Biol. Bull. 222: 26-34.
- Blais, S.A., MacKenzie, L.A. and Wilson, M.V.H. (2011). Tooth-like scales in early devonian Eugnathostomes and the 'Outside-In' hypothesis of the origins of teeth in vertebrates. Journal of Vertebrate Paleontology. 31(6):1189-1199.
- Butler, P.M. (1995). Ontogenetic aspects of dental evolution. Int. Dev. Biol. 39:25-34.
- Castro, J.I. (2011). The sharks of North America. Oxford University. USA. 613 p.
- Cervigón, F., Cipriani, R., Fischer, W., Garibaldi, L., Hendrickx, M., Lemus, A.J., Márquez, R., Poutiers, J.M., Robaina, G. and Rodríguez, B. (1992). Guía de campo de las especies comerciales marinas de aguas salobres de la costa septentrional de sudamerica. Roma, FAO. 513 p.
- Compagno, L., Dando, M. and Fowler, S. (2005). A Field Guide to the Sharks of the World. HarperCollins Publishers Ltd., London. 368 p.
- Crooks, N., Babey, L., Haddon, W.J., Love, A.C. and Waring, C.P. (2013). Sexual dimorphisms in the dermal denticles of the lesser-spotted catshark, *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758). PLoS ONE. 8(10): e76887. doi: 10.1371/journal.pone.0076887
- Cumley, R.W., Crow, J.F. and Griffen, A.B. (1939). Clearing specimens for the demonstration of bone. Stain Tech. Vol. 14, No. 1: 7-11.
- Davis, D.D. and Gore, U.R. (1936). Clearing and staining skeletons of small vertebrates. Chicago Nat. Hist. Mus. Technique Ser., 16 p.



- Dawson, A.B. (1926) A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Tech.* 1: 123-124.
- Dingerkus, G. and Uhler, L.D. (1977). Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. *Stain Technol.* 52: 229-232.
- Fraser, G.J., Cerny, R., Soukup, V., Bronner-Fraser, M., Streelman, J.T. (2010). The odontode explosion: the origin of tooth-like structures in vertebrates. *Bioessays.* 32:808-817.
- Fraser GJ and Smith MM. (2010). Evolution of developmental pattern for vertebrate dentitions: an oro-pharyngeal specific mechanism. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)* 314B:1-14.
- Hamlett, W.C. (1999). *Sharks, skates and rays: the biology of elasmobranch fishes.* The Johns Hopkins University Press. U.S.A. 515 p.
- Hoffmayer, E.R. and Parsons, G.R. (2003). Food habits of three shark species from the Mississippi sound in the northern Gulf of Mexico. *Southeastern Naturalist.* 2(2):271-280.
- Hollister, G. (1934). Clearing and dyeing fish for bone study. *Zoologica*, Vol. XII, No. 10: 89-101.
- Imms, A.D. (1905). On the oral and pharyngeal denticles of elasmobranch fishes. *Proc. Zool. Soc. Lon.* 1(IV): 41-49.
- Johanson, Z. and Smith, M.M. (2003). Placoderm fishes, Pharyngeal denticles, and de vertebrate dentition. *Journal of Morphology.* 257: 289-307.
- Johanson, Z. and Smith, M.M. (2005). Origin and evolution of gnatostome dentitions: a question of teeth and pharyngeal denticles in placoderms. *Biol. Rev.* 80, pp.1-43.
- Kimbley, A.P. (2013) *The Biology of sharks and rays.* University of Chicago Press. U.S.A. pp. 64-71.
- Lang, A., Habegger, M.L., Motta, P. and Hueter, R. (2012). Shark skin boundary layer control. *Bioinspiration Biomim.* 1: 139-150.
- Lewbart, G.A. (1998). *Self-assessment colour review of ornamental fish.* Manson Publishing. 192 p.



- Lipman, H.J. (1935). Staining the skeleton of cleared embryos with alizarin red S. *Stain Tech.* 10:61-63.
- Meneses, M.O.Q. (2008). Correlación anatómica entre el exoesqueleto del tiburón martillo *Sphyrna lewini* y el pez guitarra *Rhinobatus lentiginosus*. Tesis de Licenciatura, FES Iztacala. UNAM. 64 p.
- Miyake, T., Vaglia J.L., Taylor, L.H. and Hall, B.K. (1990). Development of dermal denticles in skates (Chondrichthyes, Batoidea): Patterning and cellular differentiation. *Journal of Morphology.* 241: 61-81.
- Moss, S.A. (1984). *Sharks: An introduction for the amateur naturalist.* Prentice-Hall. Englewood. N.J. 246 p.
- Muñoz, C.R. (1985). Sobre la clasificación topológica del esqueleto dérmico de escualos (Chondrycthes). *Miscellania Zoológica.* 9:396-400.
- Nelson G.J. (1970). Pharyngeal denticles (placoid scales) of sharks, with notes on the dermal skeleton of vertebrates. *American Museum Novitate.* 26 p.
- Nelson, J.S. (2006). *Fishes of the world.* 4th ed. John Wiley & Sons. USA. 622 p.
- Ostrander, G.K. 2000. *The laboratory Fish.* Academic Press Inc. U.S.A. 678 p.
- Parga, M.N.J. (2011). Descripción de los dentículos dérmicos en la región orofaríngea de hipotremados. Tesis de Licenciatura, FES Iztacala. UNAM. 66 p.
- Pirlot, P. (1976). *Morfología evolutiva de los cordados.* Omega. Barcelona. 954 p.
- Rocha, M.J., Arukwe, A. and Kapoor, B.G. (2008). *Fish Reproduction.* CRC Press. 632 p.
- Schaefer, S.A. y Buitrago-Suárez, U.A. (2002). Odontode morphology and skin surface features of andean astroblepid catfishes (Siluriformes, Astroblepidae). *Journal of Morphology.* 254:139-148.
- Serra-Pereira, B., Figueiredo, I., Farias, I., Moura, T. and Gordo, L.S. (2008), Description of dermal denticles from the caudal region of *Raja clavata* and their use for the estimation of age and growth. *ICES Journal of Marina Science.* 65: 1-9.
- Torres-Rojas, Y. Hernández-Herrera, A. and Galván-Magaña, F. (2006). Feeding habits of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*, in Mazatlán waters, southern Gulf of California, Mexico. *Cybium.* 30(4):85-90.



- Zangerl, R., Winter, H.F. and Hansen, M.C. (1993). Comparative microscopic dental anatomy in the Petalodontida (Chondrichthyes, Elasmobranchii). Fieldiana. U.S.A. 64 p.

