

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE CIENCIAS

Descripción histológica de la gónada femenina del caracol *Plicopurpura patula* de la laguna de Tamiahua, Veracruz.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIOLOGO

P R E S E N T A:

Daniel Velázquez Guerrero



## **DIRECTORA DE TESIS:**

M. en C. María del Pilar Torres García. 2015

Ciudad Universitaria, D. F.





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.

## **AGRADECIMIENTOS**

Con total alegría, mi plena dedicación, Mi dicha a Lucha, constante y plena, Bosque de Robles, inquebrantable plantación, Cúmulo de estrellas y mi luna llena.

Para ustedes siempre, que admiro y Amo: A mi madre, mi dedicación *Luz María*, mi luz; A mi padre, mi dedicación *Francisco Joaquín*, Mi Roble.

Mi plantación: Mis hermanos que siempre están a mi lado *Federico*, *Libia* y *Francisco Mario*, apoyando y animando en todo momento

Mis abuelos que siempre presionaron para vivir la vida hoy.

Porque por ti y por ellos, nunca me venceré; A mi dios padre me revelaré; con premura nunca me detendré.

A mi futuro cercano: *Clau* mi esposa, por tu eterna comprensión, a mis hijos *Valentina*, *Lucas* y *María*, que son todo lo que he buscado y al fin lo encontré.

VALE por que nada tiene valor sin esfuerzo y dedicación, LUCAS por que las palabras es el arma más fuerte, MARIA por que la sonrisa es el despertar más bello del alma.

CLAU, porque tu lo sabes, eres mi todo, esto para ti.

A mi suave Cobijo, Humilde sapiensa, Como un tesoro, un hijo; Mi camino siempre dispensa.

A mi gran Tesoro del Saber, que nunca sucumbió, por su cariño y paciencia: Mi Teach y amiga, *María del Pilar Torres García.* 

A mis **sinodales** por sus conocimientos, y consejos:

Dra. María Ana Fernández Álamo, Dra. María del Carmen Uribe Aranzabal, Dra. Patricia Rivas Manzano, Dra. Norma Angélica López Gómez.

A la Bióloga Erika Samantha Palacio Ávila, por sus correcciones y apoyo en este trabajo.

A Evodio mi gran amigo, por sus locuras, aventuras, y amor desmedido.

A Pepe, Rafa, Juanqui, Dr. Kimura, Hugo, Carlos, Oscar, Nacho, Tepex, Lucho, Ana, Sonia, Chispa, Constanza, Alice, Erika, Edgar, Elleli, Cuervo, Iriana, Chavo, Tyson y a todos mis compañeros y maestros de mis Generaciones; que siempre están a mi mente, como dedos a una mano.

Que me hicieron sentir la fuerza de la verdadera amistad.

## 1. Datos del alumno

Velázquez

Guerrero

Daniel

35 37 04 84

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

0482150883

#### 1. Datos del tutor

M. en C.

María del Pilar

Torres

García

## 2. Datos del sinodal 1

Dra.

María Ana

Fernández

Álamo

## 3. Datos del sinodal 2

Dra.

María del Carmen

Uribe

Aranzabal

## 4. Datos del sinodal 3

Dra.

Patricia

Rivas

Manzano

## 5. Datos del sinodal 4

Dra.

Norma Angélica

López

Gómez

## 6. Datos del trabajo escrito

Descripción histológica de la gónada femenina del caracol *Plicopurpura patula (Linnaeus*, 1758) de la región de Tamiahua, Veracruz.

49 p.

2015

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Invertebrados del Departamento de Biología Comparada de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la M. en C. María del Pilar Torres García.

Este trabajo forma parte del proyecto Determinación de los ciclos gonádicos y reproductivos del caracol de *Plicopurpura pansa (Gould, 1853),* Plicopurpura Columellaris *(Lamarck, 1816), en los nueves estados costeros del Pacifico Mexicano y el caracol Plicopurpura patula* (Linnaeus, 1758) del Golfo de México.

# **INDICE**

1.	INTRODUCCIÓN	01
2.	ANTECEDENTES	04
	2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	07
	2.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	07
	2.3. BIOLOGÍA DE LA ESPECIE	08
	2.3.1. MORFOLOGÍA EXTERNA	11
	2.3.2. MORFOLOGÍA INTERNA	12
3.	OBJETIVOS	16
	3.1. OBJETIVOS GENERALES	16
	3.2. OBJTEIVOS PARTICULARES	16
4.	ÁREA DE ESTUDIO	16
	4.1. SITIO DE COLECTA	17
5.	MATERIAL Y MÉTODOS	20
	5.1.TRABAJO DE LABORATORIO	21
6.	RESULTADOS	31
	6.1 DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA	32
	I. ETAPA TEMPRANA	33
	II. ETAPA TARDÍA	36
	III. ETAPA MADURACIÓN	37
	IV. ETAPA DE DESOVE PARCIAL	39
	V. ETAPA DE DESOVE TOTAL	41
7.	DISCUSIÓN	42
8.	CONCLUSIONES	43
9	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	44

# Descripción histológica de la gónada femenina del caracol *Plicopurpura patula* de la Laguna de Tamiahua, Veracruz.

# 1. INTRODUCCIÓN

En el mundo animal, los moluscos representan el segundo grupo en importancia numérica de las especies que han sido descritas, de los cuales existen más de 130 mil especies vivientes y alrededor de 35 mil en estado fósil; sólo los insectos los superan en número (Fig. 1).



Figura 1. Diversidad de conchas de moluscos.

(Foto Daniel Velázquez Guerrero)

Los moluscos constituyen un grupo extraordinario que han presentado grandes adaptaciones a lo largo de sus diferentes modos de vida, desde la fase de larvas nadadoras trocófora y veliger, hasta los adultos que ocupan diversos ecosistemas, formando parte de su equilibrio. (Fig. 2).

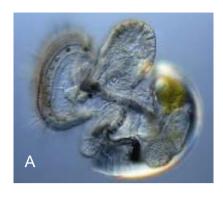




Figura 2.

A) Larva veliger de moluscos

B) Larvas trocófora de Gastropoda.

(Foto de curador Wim van Egmond).

La clase Gastropoda es la más abundante dentro de los moluscos, formando la mayor parte del bentos marino. Su localización geográfica se extiende desde los trópicos hasta las regiones polares, cuya distribución vertical va desde la zona intermareal hasta el mar profundo, decreciendo el número de especies en esta misma dirección. La mayor abundancia y diversidad ocurre en los mares tropicales, donde representan un componente muy importante de las comunidades intermareales rocosas (Barnes, 1990).

Los gastrópodos pertenecientes a las Familias *Muricidae* y *Thaididae*, se caracterizan por poseer una glándula hipobranquial (llamada así por situarse a un lado de las branquias), que además de secretar mucus, contiene cromógenos que producen una substancia color blanca.

El caracol *Plicopurpura patula* pertenece a los caracoles productores de dicha substancia tintórea que en presencia de

la luz solar, oxígeno del aire sufre fotooxidación, formando el llamado "púrpura de Tiro" (Ríos-Jara et al., 2004) cambiando su color del blanco lechoso, al amarillo, verde, azul y finalmente a un color purpúreo.

En México, desde hace años, grupos étnicos como los Mixtecos del Estado de Oaxaca, han utilizado el tinte para teñir hilos con los cuales han confeccionado prendas que ostentan un significado histórico, social y religioso. En la década de los ochentas se otorgó un permiso de explotación del caracol púrpura a una compañía japonesa "Purpura Imperial", y debido al mal uso de este recurso, la especie sufrió un decremento en sus poblaciones, lo que ocurrió principalmente en las costas del Estado de Oaxaca, donde fueron contratados pescadores que desconocían la técnica de extracción del tinte y manejo del caracol (Turok et al., 1988; Holguín, 1992). (Fig. 3).



Figura 3. Teñido tradicional del caracol *P. pansa* en las costas de Oaxaca. (Tomado de Turok, 1988.)

Sin embargo, esta especie no es utilizada en los procesos de tinción tradicional como los que se llevan a cabo con *Plicopurpura pansa* en las costas de Oaxaca.

## 2. ANTECEDENTES

Existen pocos estudios acerca del caracol *Plicopurpura* patula, en comparación con los que se han realizado con el caracol del Pacífico *Plicopurpura pansa*, esto se debe a que este último tiene importancia por su tinte, en cambio con *Plicopurpura patula* no se tienen registros que indiquen, el aprovechamiento de este recurso en las costas del Golfo de México, donde habita.

De esta escasa literatura sobre *P. patula*, Cossman en 1903, propone a *Plicopurpura patula* como una nueva combinación (antes conocido como *Purpura patula*), basado en las diferencias morfológicas en la anatomía, rádula y cápsulas, formando la especie tipo del *P. patula*. Cossman 1903, continua argumentando que *Plicopurpura patula* difiere en su sistema reproductivo de otros Muricoidea; presenta una fila de receptáculos seminales posteriores en la periferia dorsal de la glándula albumen. Los espermatozoides se incrustan en las paredes de los receptáculos seminales y son puestos en libertad para los huevos fértiles, que entran en la glándula del albumen. El género *Nucella*, *(Muricoidea, Thaidine)* no presenta estos receptáculos seminales posteriores.

En el año de 1972, González y Flores, realizaron observaciones sobre la anatomía de la concha de *Purpura patula* y algunas otras especies de la fauna malacológica de las costas de Venezuela.

En 1986, Castillo-Rodríguez realizó un estudio sobre la morfología y anatomía del caracol "Morado" Purpura spp. Un año después, 1987, Castillo y García-Cubas, llevaron a cabo un estudio con base en las características anatómicas y conquiológicas estructurales de la rádula, comparando a Plicopurpura pansa y las denominadas Plicopurpura patula y Plicopurpura columellaris. Ajustándose todas estas especies a un patrón morfológico afín en la estructura adaptativa de la concha, la rádula y el tracto digestivo, las cuales presentan diferencias interespecíficas, debido pequeñas que Plicopurpura pansa, es una especie más voraz que Plicopurpura columellaris y Plicopurpura patula.

Castillo en 1992, compara a *Purpura pa*nsa con *Plicopurpura patula* y *Plicopurpura columellaris*, proponiendo una nueva combinación de la especie *Plicopurpura pansa*.

En su taxonomía, otro carácter de valor constante es el fisiológico, que se manifiesta y tipifica en una estructura anatómica como resultado de su adaptación.

A diferencia de los numerosos estudios de clasificación descriptiva basados en la concha de gran variedad de

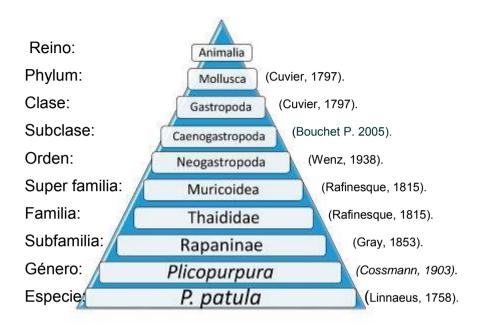
especies que constituyen a las familias *Muricidae* y *Thaididae*, existen pocos estudios enfocados a la anatomía fisiológica y la adaptativa, y aún más escasos son los estudios sobre especies que habitan en las costas de México.

Con base principalmente en la concha, a la subfamilia *Thaidinae* se le ubica dentro de la familia *Thaididae*, de acuerdo con Keen (1971); sin embargo, otros autores como Abbott (1972), Cernohorsky (1969), Kool (1988) y Vaught (1989) la colocan dentro de la familia *Muricidae*. Según lo anterior, Keen asigna a la especie denominada *Purpura pansa* a la familia *Thaididae*, y el resto de los autores mencionados la incluyen en la familia *Muricidae*, basados principalmente en los caracteres de la concha; recientemente, Castillo-Rodríguez (1992) sugiere su posición dentro de los murícidos, sustentada en caracteres del tracto digestivo y de la estructura radular.

González en 1997, estudió el ciclo gonádico de *Purpura pansa* del estado de Sinaloa, con técnicas histológicas para determinar los diferentes estados de maduración, describiendo para machos y hembras 4 etapas de desarrollo de la gónada, relacionándolos con los valores del Índice gonadosomático obtenidos para cada una de las etapas gonádicas, para definirlas a determinadas épocas del año.

Sobre *Plicopurpura patula* no existen estudios sobre su desarrollo gonadal.

# 2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA



# 2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Los caracoles de la especie *Plicopurpura patula* se localizan en la costa occidental del Atlántico, en el sur de la Florida, pasa por las grandes Antillas como: Cuba, Jamaica, Haití, República Dominicana, Puerto Rico y las pequeñas Antillas, llegando al sur de Venezuela en la Isla Los Roques.

En México se distribuye en la costa del Golfo de México, y Mar Caribe (Keen, 1971). (Fig.4).



Figura 4. Distribución geográfica del caracol *Plicopurpura patula.* (Color amarillo)

## 2.3 BIOLOGIA DE LA ESPECIE.

A los organismos de la especie se les encuentra en el intermareal en la zona rocosa de la costa. El *Plicopurpura patula* se caracteriza por la presencia de un pie muscular, su cuerpo con simetría bilateral, una concha calcárea secretada por el integumento subyacente llamado manto, y un órgano de alimentación, la rádula (Barnes, 1990).

Son depredadores activos; se alimentan de invertebrados como mejillones, quitones, lapas, balanos y otros caracoles gasterópodos.

Plicopurpura patula es un organismo dioico, con reproducción de tipo sexual con diferencias poco perceptibles entre ambos sexos. Sin embargo, las conchas de las hembras son de mayor tamaño, además de que el macho presenta un pene conspicuo detrás del tentáculo derecho, de forma cónica al estar distendido y se enrolla en espiral. (Ríos-Jara, et al., 2004). (Fig. 5 y 6).



Figura 5. Hembra de Plicopurpura patula (Foto P. Torres García)



Figura 6. Macho de Plicopurpura patula (Foto P. Torres García)

De esta especie hay pocos estudios acerca de su biología, así como de su ciclo de vida, por lo que se hará referencia a los datos observados en la especie hermana Plicopurpura pansa (Fig. 7).

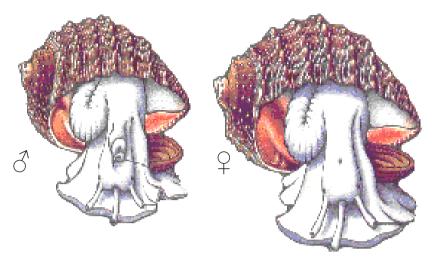


Figura 7. Descripción anatómica de macho ( $\circlearrowleft$ ) y hembra ( $\updownarrow$ ) del caracol *Purpura pansa*. (Tomado de Turok et al, 1988).

El ciclo de vida de *P. pansa* presenta un desarrollo directo. La hembra al quedar fecundada, empieza la formación de cápsulas ovígeras en su interior. Después de aproximadamente dos meses oviposita sus huevecillos en las grietas de las rocas de playa, que se caracterizan por carecer de larvas de natación libre (Barnes, 1990); pero pueden reconocerse las etapas larvales de trocófora y veliger en el huevo (Fig. 2). En los meses de julio y agosto, durante la época de lluvias, el caracol diminuto sale del huevo para integrarse a la población de caracoles (Turok, et al 1988). (Fig. 8).

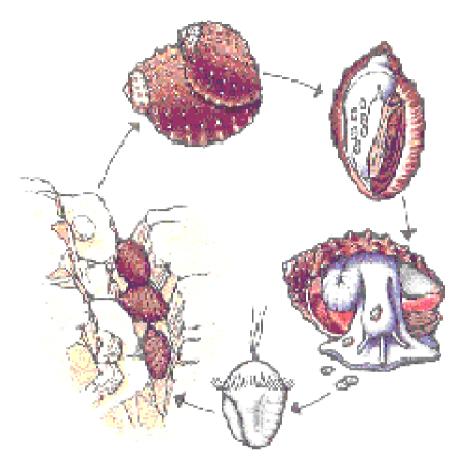


Figura 8. Ciclo de vida de caracol *P. pansa* (Tomado de Turok et al, 1988)

# 2.3.1 MORFOLOGÍA EXTERNA

La concha de *P. patula* mide entre 60 y 90 mm, la superficie es de color gris, con cuatro a cinco vueltas o giros; la vuelta corporal es muy desarrollada ornamentada por seis a siete cordones espirales, nódulos agudos y líneas entre ellos, la abertura es grande de color rosa salmón sin ombligo; el borde de la abertura es denticulada, con manchas café oscuro (García-Cubas, 2004) (Fig. 9).



Figura 9. Cara ventral y dorsal de *P. patula* (Foto P. Torres García)

# 2.3.2 MORFOLOGÍA INTERNA

Las características generales que posee, *P. patula* como molusco gasterópodo son: pie, cabeza, masa visceral, manto y concha (Fig. 10).

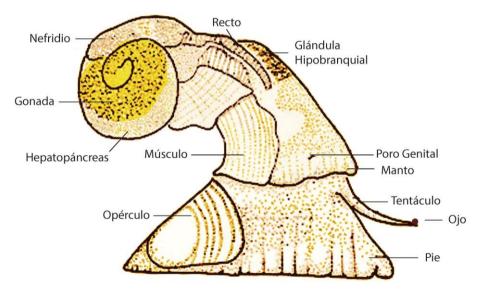


Fig.10. Anatomía general de *P. patula* (Tomado de Volzow 1994, modificado por Daniel Velázquez Gro).

El pie es un órgano musculoso que sirve para la locomoción, y sufre modificaciones en función del sustrato sobre el cuál se desplaza. En la porción anterior al pie *P. patula*, presenta una cabeza, provista de tentáculos, que sostienen en su extremidad órganos de los sentidos, como lóbulos oculares. En posición dorsal al pie se dispone un saco que contiene una masa visceral formada por los órganos del sistema digestivo, excretor, circulatorio y genital, el cuál recibe el nombre de manto o paleo, y al espacio entre el pliegue del manto y el resto del cuerpo se le denomina cavidad paleal. El manto tiene funciones respiratorias, además es el que se encarga de la formación de la concha (Barnes, 1990).

El aparato radular es el órgano más distintivo del phylum, el cual se encuentra en seis de la siete clases en las que se divide, excepto en los bivalvos. Es típico del sistema digestivo de los gasterópodos y se localiza en la cavidad bucal. La rádula lleva numerosos dientecillos quitinosos que trabajan a manera de un raspador o lima. En *P. patula* es muy característico, presenta una estructura que sigue un patrón que conforma a un diente central o raquídeo largo, agudo y liso, ancho por su base, con una ranura en su parte media dorsal que corre a lo largo del diente hasta cerca de la punta, por donde es probable que emane un líquido relacionado con la captura de las presas. Las cúspides laterales alcanzan en altura poco más de la mitad de la cúspide central, son casi rectas cerca del capuchón o parte superior de la rádula y

torneados los ápices hacia afuera en el nivel medio de la rádula. Dentículos internos bien separados del diente central, y más cercanos de la cúspide lateral; le sigue un hombro marginal elevado, sin cúspides ni dentículos (Castillo-Rodríguez), que han servido para determinar su ubicación taxonómica, sin contar con una imagen, por lo que se ilustra la de *P. pansa.* (Fig. 11).

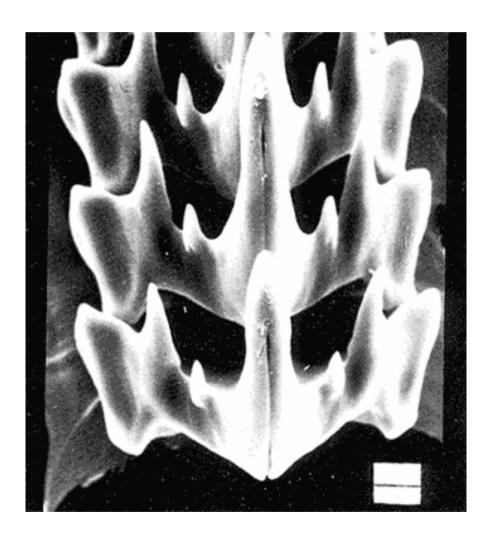


Figura 11. Rádula de *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853) (8 mm = 20 µm)

El sistema reproductor femenino está constituido de ovario, oviducto, receptáculo seminífero, un par de glándulas que forman las cápsulas ovígeras y poro genital, semejante a lo descrito por Giese *et al.*, 1977, para *P. pansa*. (Fig. 12).

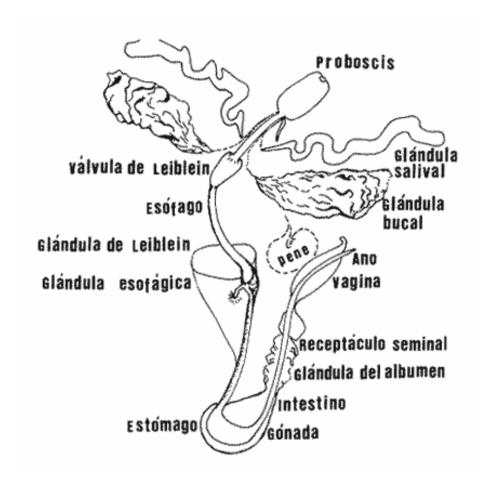


Figura 12 .Tracto digestivo y aparato reproductor de Plicopurpura pansa (tomado de Giese)

En *P. patula* presenta una unión estrecha con el hepatopáncreas, que forman una estructura llamada cono hepatogonadal.

## 3. OBJETIVOS

## 3.1 OBJETIVO GENERAL

Contribuir a la descripción histológica de la gónada femenina del caracol de tinte *Plicopurpura patula* (*Linnaeus*, 1758), de la Laguna de Tamiahua en el estado de Veracruz.

## 3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- ▲ Ampliar el conocimiento de la biología del caracol de tinte Plicopurpura patula.
- Aportar bases histológicas para futuros trabajos que ayuden a disminuir los grandes vacíos de información acerca de la especie.

## 4. AREA DE ESTUDIO

El área de estudio se ubicó en el estado de Veracruz, en donde el clima es cálido subhúmedo en la parte norte y húmedo hacia el sur. La porción septentrional de la costa consiste en una amplia isla de barrera que encierra la laguna de Tamiahua formado por la sedimentación del río Pánuco (Fig. 13).



Figura 13. Ubicación geográfica de la Laguna de Tamiahua, Veracruz. (Tomada de INEGI, México)

# **4.1 SITIO DE COLECTA**

La colecta se realizó en la Laguna de Tamiahua, Veracruz que es la tercera laguna costera más grande de México (Fig. 14).

Su importancia radica por ser el límite norte de un manglar extenso y bien estructurado al norte del Papaloapan. Es un sitio de refugio y hábitat de especies de importancia económica y de aves migratorias.

Existe una zona de playa importante para el desove de tortugas marinas. Es además el límite boreal de varias especies típicas de este bioma. Representa también una de las lagunas más ricas en especies de peces, de las cuales están reportadas aproximadamente 120. Se encuentran zonas de manglares, pastizales y dunas costeras.

Los principales tipos de vegetación de la zona son el manglar, la vegetación de dunas, selva baja caducifolia y vegetación halófita.

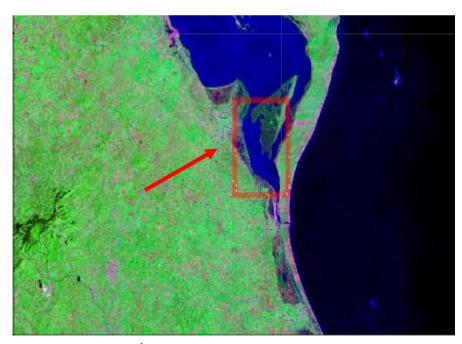


Figura 14. Área de colecta. Laguna de Tamiahua, Ver. (Foto tomada del Land Sat, 2010)

Plicopurpura patula se encuentra fija a sustratos rocosos expuestos al oleaje en grietas y oquedades en la zona intermareal (Fig. 15). Su máxima abundancia se localiza en la franja superior y media del nivel mesolitoral, donde se observan cambios diurnos y con el nivel de mareas, (León-Álvarez, 1989, Avilés, et al., 1990).



Figura 15. Superficie rocosa en la que se encuentra *P. patula* (Foto *P. Torres García.*)

# 5. MATERIAL Y MÉTODOS

La colecta se realizó mensualmente a lo largo del año 2008, en la escollera de la zona de rompiente en la boca Sur de la Laguna de Tamiahua, en la región norte del estado de Veracruz, (Fig. 16 y 17).

Se obtuvieron 5 organismos hembras de diferentes tallas por mes (60 por año), que fueron numerados en el opérculo al momento de ser colectados, sexados y desconchados para su fijación en formol al 10 %.



Figura 16. Entrada a la Laguna de Tamiahua, Veracruz. (Foto P. Torres García.)



Figura 17. Sitio de colecta en la escollera de la boca sur de la laguna de Tamiahua, Veracruz. (Foto P. Torres G.)

## **5.1 TRABAJO DE LABORATORIO**

Se denomina técnica histológica al conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones óptimas para poder observar, examinar y analizar.

Los organismos fijados fueron llevados al Laboratorio de Invertebrados de la Facultad de Ciencias de la UNAM, para su procesamiento histológico.

Se seleccionaron a los caracoles hembras, se desconcharon y se les extrajo la gónada para aplicar la técnica histológica, que consiste en una serie de pasos: fijación, deshidratación, aclaramiento, inclusión, corte y tinción.

Al concluir la fijación, se procedió al lavado de los tejidos mediante agua corriente.

## - DESHIDRATACIÓN E INCLUSIÓN:

Para la deshidratación de las gónadas se empleó un Histokinette American Optical T/P 8000., utilizando concentraciones de alcoholes graduales. (Fig. 18).

	OH 70 °90 mir	١.
>	OH 83 °90 mir	١.
>	OH 96 °60 mir	١.
>	OH 100 °30 mi	n.
>	OH 100 ° - Xilol (1:1)30 mi	n
>	Xilol15 mi	n
>	Parafina15 mii	า
>	Parafina15 mii	า

Para eliminar toda el agua de las células y transparentar con xilol, e infiltrar la parafina con dos cambios de 15 minutos cada uno.



Figura 18. Histokinette para la deshidratación de los tejidos.

Para el proceso de inclusión, se empleó un Centro de Inclusión Tissue Tek II, utilizando una parafina de punto de fusión de  $56^{\circ}$  C -  $58^{\circ}$  C. (Fig. 19).



Figura 19. Inclusión en parafina de la gónada.

# - MICROTOMÍA:

En esta etapa, los tejidos y la parafina integran un solo bloque que, posee la dureza y la consistencia suficientes para obtener secciones delgadas y transparentes.

Se utilizó un microtomo de rotación Leica RM 2125RT y se calibró para obtener cortes de 7µm de grosor (Fig. 20).



Figura 20. Microtomía a 7 µm

Los cortes se extienden en un baño de flotación, que contiene agua con grenetina (a temperatura entre 28° a 30° C), para evitar que el tejido se arrugue.

Los cortes se recogen y adhieren al portaobjetos y se mantienen en tablas de madera para su secado, y conserven su adhesión al portaobjetos (Fig. 21 y 22).



Figura 21. Colocando cortes histológicos en baño de flotación.



Figura 22. Cortes histológicos listos para técnicas de tinción.

## - TINCIÓN:

Se utilizaron las técnicas de Hematoxilina-Eosina, Mallory y Masson; para obtener mejor información de la estructura de los tejidos.

## **HEMATOXILINA -EOSINA (H&E)**

La coloración de *Hematoxilina - Eosina* se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico, por proporcionar una vista panorámica de los tejidos.

## Consiste en la tinción de:

- a) Los **núcleos** mediante una **hematoxilina**, previamente oxidada y transformada en **hemateina** a la que se le añade una sustancia mordente. Los **núcleos** se colorean de **azul, azul morado, violeta y pardo oscuro**, dependiendo de los agentes oxidantes y mordentes que se utilizaron.
- b) el **citoplasma** y **material extracelular** utilizando la **eosina** que les confiere diversos grados de color **rosado**.

Tren de tinción que se utilizó con la técnica de *Hematoxilina* –*Eosina* (Fig. 23).

# 1. Desparafinar los cortes en

	>	Xilol	5 min.		
	>	Xilol	5 min.		
Hidratar los cortes en baños decrecientes de alcohol					
	>	Alcohol absoluto (100°)	1 min.		
	>	Alcohol absoluto (100°)	1 min.		
	>	Alcohol 96° C	1 min.		
	>	Alcohol 96° C	1 min.		
	>	Alcohol 70° C	2 min.		
	>	Agua corriente	1 min.		
	>	Hematoxilina de Harris	3 min.		
	>	Agua corriente	1 min.		
	>	Agua destilada	5 min.		
	>	Carbonato de Litio (saturado) cambio o	de color.		
	>	Agua destilada	1 min.		
	>	Alcohol 70° C	2 min.		
	>	Eosina amarillenta alcohólica	3 min.		
	>	Alcohol 96° C	. 2 min.		
	>	Alcohol absoluto (100°)	2 min.		
	>	Xilol	2 min.		
	Mc	ontaje con resina sintética.			

Tinción de Mallory: técnica para el estudio del tejido conjuntivo. Los cortes se tiñen con fucsina ácida, solución de azul-naranja G de anilina y ácido fosfomolíbdico. Las fibras de colágena aparecen en

azul, y fibras musculares se tiñen en rojo y las fibrillas de elastina en naranja. Ovocitos con citoplasma azul y vitelo rojo, también llamada tinción tricrómica de Mallory

# - TÉCNICA MALLORY

> Xilol10 min.				
> Alcohol absoluto (100°) 3 min.				
> Alcohol 96°				
> Alcohol 96°3 min.				
> Alcohol 70°3 min.				
> Agua destilada3 min.				
> Tiosulfato de sodio5 min.				
> Lavar con agua corriente2 min.				
> Fucsina ácida5 min.				
> Lavar con agua destilada15 min.				
> Ácido fosfomolíbdico 10%3-5 min.				
> Teñir con colorante5 min.				
> Lavar con agua destiladaenjuague.				
> Alcohol 96° enjuague.				
> Alcohol absoluto (100°) enjuague.				
> Xilol3 min.				
Montaje con resina sintética				

- Técnica tricrómica de Masson para el tejido conjuntivo.

# **TÉCNICA MASSON**

	Xilol10 min.
>	Alcohol absoluto 3 min.
>	Alcohol 96°3 min
>	Alcohol 96°3 min.
>	Alcohol 70°3 min.
>	Alcohol 50°3 min.
>	Alcohol 30°3 min.
>	Lavar con agua destilada3 min.
>	Hematoxilina Fe5 min.
>	Lavar con agua corriente3 min.
>	Lavar con agua destilada1 min.
>	Escarlata de Biebrich
>	Lavar con agua destilada hasta tomar tono rosado.
>	Solución Fosfomolíbdico y Ac.
	fosfotúngsticó
>	Solución de Anilina 10 min.
>	Lavar exceso de solución con agua destilada.
>	Alcohol 96° 3 min.
>	Alcohol absoluto (100°) 3 min
>	XiloI3 min.
>	Montar con resina sintética.



Figura 23. Tiñendo usando tren de tinción

# - OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Ya montadas las muestras con resina sintética, se observaron al microscopio, seleccionando los campos más representativos de los diferentes estados de desarrollo de los ovocitos de la gónada del *P. patula*; para la toma de las microfotografías (Fig. 24).



Figura 24. Observación al microscopio.

### 6. RESULTADOS.

Plicopurpura patula presenta sexos separados, siendo generalmente las hembras más grandes que los machos. Las hembras poseen una gónada que se localiza por encima de la masa visceral en la parte dorsal del hepatopáncreas, en las primeras espiras de la concha. El tejido de la gónada prolifera según la etapa de desarrollo que presente determinando su etapa de maduración. Al estar en íntima unión con el hepatopáncreas forma una estructura elíptica llamada cono hepatogonadal, que se distingue debido a que la gónada femenina presenta una coloración amarrilla a diferencia de los machos que es de color naranja, característica que ayuda a que a simple vista se puedan identificar los sexos (Fig. 25).

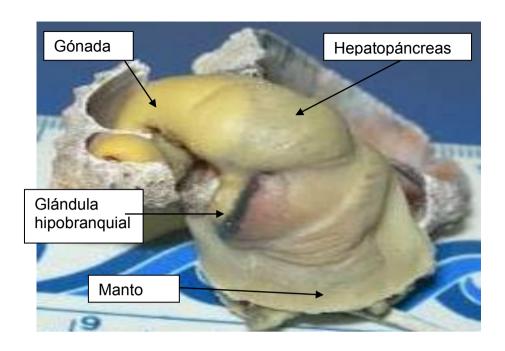


Figura 25. Caracol desconchado donde se ubica la gónada de *P. patula*.

# 6.1 DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA

Histológicamente la gónada femenina está delimitada por una cápsula, formada por un epitelio simple cúbico, adyacente a el tejido conjuntivo denso irregular, que en esta especie dicha cápsula se observó más gruesa con respecto a las otras especies del género *Plicopurpura*, lo que la hace una característica específica de *P. patula*. Este tejido conjuntivo se ramifica y penetra al interior de la gónada formando la pared de los folículos que agrupa a las células sexuales, en

alveolos o folículos que contienen de 4 a 15 ovocitos en diferentes grados de maduración (Fig.26).

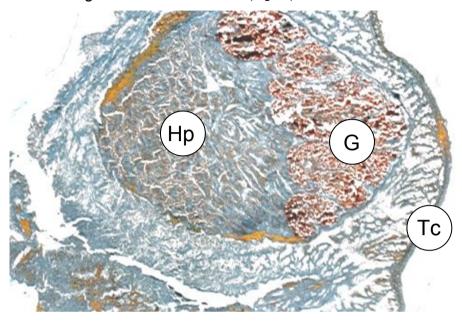


Figura 26. Vista panorámica en la que se observa la cápsula que rodea al cono hepatogonadal, formada por una capa gruesa de tejido conjuntivo laxo (Tc) que rodea al hepatopáncreas (Hp) y la gónada (G). Técnica Mallory, 10x.

Debido a que estos organismos son asincrónicos, o sea se pueden observar a los ovocitos en diferentes estadios de desarrollo en el mismo momento, se determinaron las etapas de acuerdo con la predominancia de maduración de las células sexuales en la gónada, llegando a identificar cinco etapas de desarrollo gonadal (Fig.30).

I. ETAPA TEMPRANA: La cápsula de tejido conjuntivo laxo, que rodea al cono hepatogonadal, se observa muy engrosada y se adelgaza como una línea delgada, donde separa la gónada del hepatopáncreas y, a su vez, penetra en la gónada formando a los alveolos o folículos que presentan grupos de ovocitos en el inicio de su desarrollo, llamados ovogonias, que se localizan adheridas a su pared (Fig. 27).

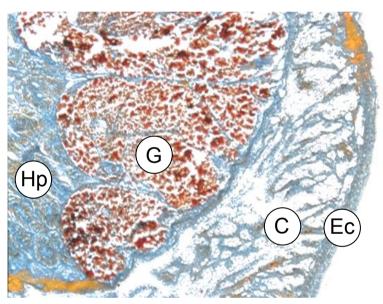


Figura 27. Acercamiento de la gónada femenina en etapa temprana.

Hepatopáncreas (Hp), Gónada (G), cápsula de Tejido conjuntivo (C),

Epitelio cúbico (Ec). Técnica Mallory, 25x.

En esta etapa inicia la formación de folículos en donde se observan las ovogonias, grandes células y formación de vitelo adheridas a la pared del folículo (Fig. 28 y 29).

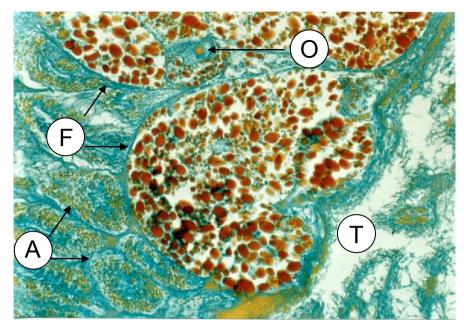


Figura 28. Etapa temprana donde se observan las ovogonias adheridas a la pared de folículos. Ovogonias (O), trabéculas de tejido conjuntivo (T), folículos (F) hacia la periferia de los alveolos. (A). Técnica Mallory 40x.

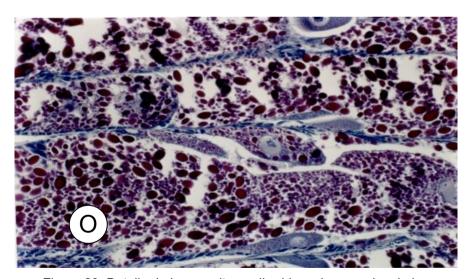


Figura 29. Detalle de los ovocitos adheridos a las paredes de los folículos. Técnica H-E 40x.

Las ovogonias presentan en su citoplasma granulaciones densas con núcleo central y evidente nucleolo. (Fig. 30)

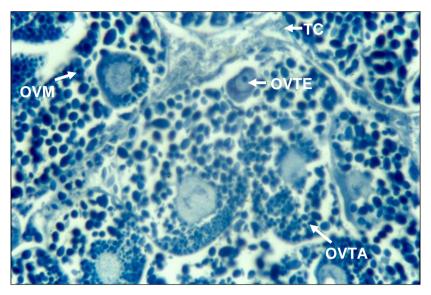


Figura 30. Asincronía de la gónada, OVTA ovocito en etapa tardía; OVTE ovocito en etapa temprana; OVM ovocito maduro; TC tejido conjuntivo.

Técnica Masson 40x.

II. ETAPA TARDÍA: En el tejido gonadal se observan los ovocitos en crecimiento, los folículos separados por el tejido conjuntivo laxo aumentan de tamaño, debido a que los ovocitos al aumentar de talla por la diferenciación, producen microvitelo en la zona perinuclear y forman macrovitelo en el citoplasma, desplazando al núcleo hacia un lado de la célula, característica de esta etapa de desarrollo. (Fig. 31 y 32).

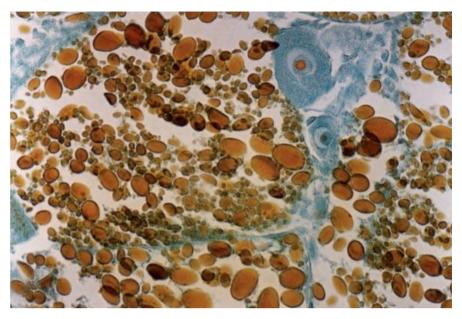


Figura 31., Etapa Tardía. Crecimiento de los ovocitos. Mallory, 40x.

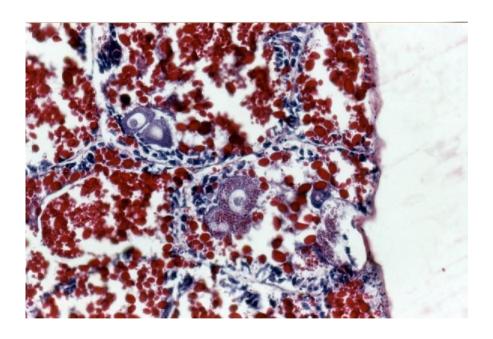


Figura 32. Acercamiento de un nido celular que contiene 4 ovocitos en crecimiento y algunos adheridos en la pared del folículo.

Técnica H-E, 40x.

III. ETAPA DE MADURACIÓN: En esta etapa la gónada posee una gran cantidad de ovocitos maduros que abarcan casi todos los espacios de los folículos. EL núcleo permanece excéntrico por sufrir desplazamiento debido a la presencia del micro y macrovitelo en el citoplama. (Fig. 33, 34 y 35).

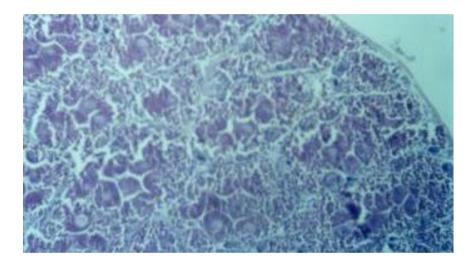


Figura 33. Vista panorámica, donde se observa un epitelio cúbico simple, ovocitos maduros con núcleo céntrico y excéntrico con macro y microvitelo. Técnica H-E, 10x.

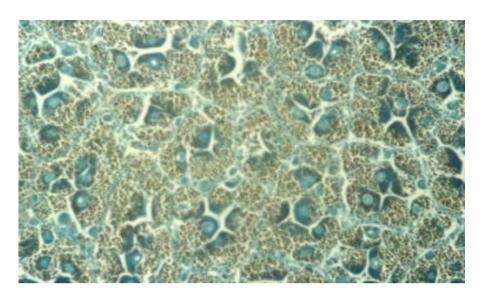


Figura 34. Se observan ovocitos maduros, no hay espacio entre ellos, presentan núcleo (N) excéntrico muy amplio. El tejido conjuntivo (TC) forma trabéculas entre los ovocitos. Técnica Mallory, 10x.

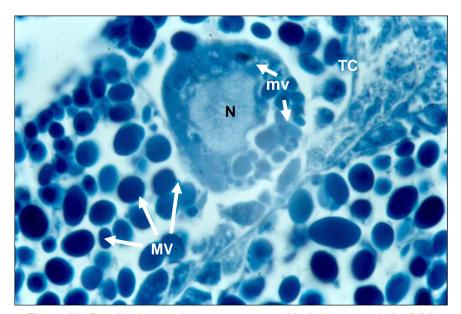


Figura 35. Detalle de ovocitos con gran cantidad de macrovitelo (MV) y microvitelo (mv), núcleo (N); tejido conjuntivo (TC).

Técnica Masson. 100x.

IV. ETAPA DE DESOVE PARCIAL: Se observan ovocitos con escaso micro y macro vitelo e inicia la expulsión de ovocitos maduros, los cuales dejan espacios vacíos. El tejido conjuntivo empieza a involucionar. (Figura 36,37 y 38).

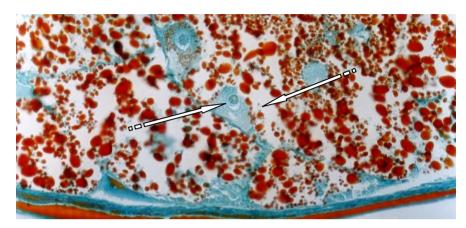


Figura 36. Etapa de desove parcial en donde se observan espacios dentro del folículo, entre los ovocitos maduros. Técnica Mallory. 40x.

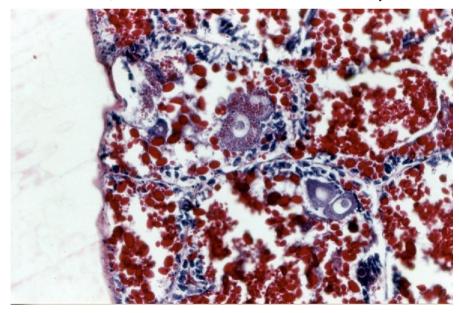


Figura 37. Ovocitos con poco vitelo y grandes espacios en blanco. Técnica H-E. 40x.

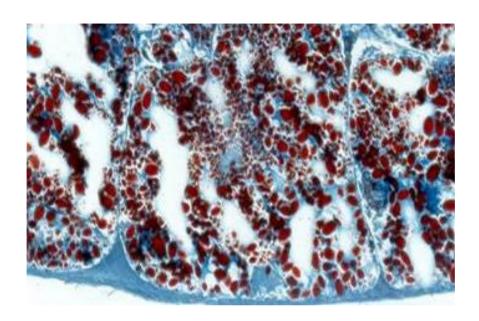


Figura 38. Desove parcial de la gónada de caracol *P. patula*. Técnica H-E. 40x.

V. ETAPA DE DESOVE TOTAL: Los espacios vacíos que dejan los ovocitos hacen que el tejido conjuntivo se reduzca. Se advierte la aparición de macrófagos que fagocitarán el tejido gonádico, dejando los folículos vacíos. (Fig. 39 y 40).

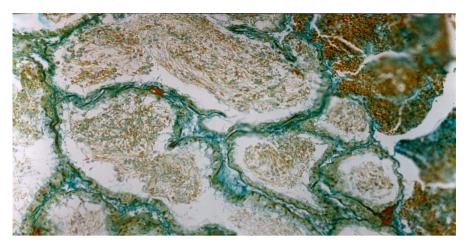


Figura 39. Panorámica en la que se observa la membrana ondulada de los folículos por la pérdida de los ovocitos. Tècnica de Mallory 40x.

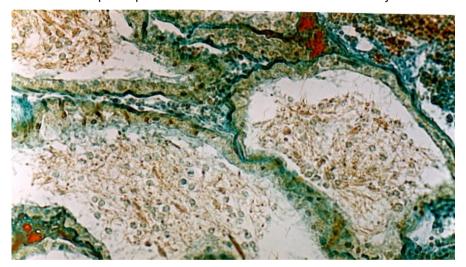


Figura 40. Acercamiento en el que se observan las gónadas con grandes espacios debido a la expulsión de los ovocitos, permaneciendo en el centro sólo células residuales y macrófagos, la membrana pierde consistencia y se vuelve ondulada. Técnica Mallory. 40x.

# 7. DISCUSIÓN

La gónada de las hembras del caracol *Plicopurpura patula*, presentan color amarillo, se localizan en las últimas espiras de la concha en la parte dorsal del hepatopáncreas, formando un cono llamado hepatogonadal.

Basándonos en la clasificación del desarrollo gonadal de Webber (1972) y Periwlinkle en (1987), observamos que las gónadas presentan diversos estados de maduración con variaciones citológicas específicas que permiten identificar cinco etapas de diferenciación gametogénica, definiendo: la etapa temprana, la tardía que es la de crecimiento, maduración, desove parcial y desove total.

Se observó que en la etapa de crecimiento los ovocitos se encuentran delimitados por trabéculas formadas por tejido conjuntivo y la presencia de gran cantidad de microvitelo en la región perinuclear y macrovitelo en el resto del citoplasma. Hay incremento del tamaño nuclear el cual adquiere una posición excéntrica.

También se registró que muchas de las gónadas presentan una asincronía en el desarrollo de los ovocitos, es decir, se observan células en diferentes fases de desarrollo, en la misma etapa, definiendo a la misma por la predominancia de determinado estadio celular.

### 8. CONCLUSIONES.

- ➤ Se realizó la descripción de la gónada del caracol Plicopurpura patula empleando tres diferentes técnicas histológicas para su determinación.
- ➤ El caracol *Plicopurpura patula*, al igual que los demás miembros de su género, tiene dimorfismo sexual, siendo las hembras las de mayor talla, además de que su gónada presenta una coloración amarilla.
- ➤ Plicopurpura patula histológicamente, presenta una capa gruesa formada de tejido conjuntivo laxo alrededor de la gónada, estructura que es distintiva y característica de la especie, descrita por primera vez.
- ➤ Se observó que existe asincronía en los ovocitos, es decir presentan células en diferentes fases del desarrollo.
- ➤ Es la primera vez que se describe el desarrollo gonadal a nivel histológico del *Plicopurpura patula*.
- ➤ Con el presente trabajo se pretende contribuir al biología del caracol *P. patula*, ya que existen grandes vacíos de información sobre esta especie.

## 9. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Abbott, R. T., 1972. Kingdom of the Seashell. The Hamlyn Publishing Group Ltd. Printed by Mondadori, Verona, Italy. Chapter No. 6. 256 pp.
- Avilés, A.S. & L. Lozada. 1975. Estudio histológico del ciclo reproductivo de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) en Punta Saliente, Coquimbo. Bol. Soc. Biol. Concepción, 44: 207-218.
- Barnes, R.D. 1990. Zoología de los Invertebrados. Interamericana, México, 1157 pp.
- Castillo-Rodríguez, Z. G. 1992. *Combinatio nova* de *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853) (Prosobranchia: Muricoidea). Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM. 19(1): 103-111.
- Castillo-Rodríguez, Z. G. y A. García-Cubas. 1987. Morfología y anatomía del caracol morado *Purpura spp.* en las costas de México. En: III Reunión Nacional de Malacología y Conquiliología. Universidad Autónoma de Nuevo León. 311-322.
- Castillo-Rodríguez. Z. G. y A. García-Cubas. 1986.
  Morfología y Anatomía del caracol "Morado" *Purpura* spp. en

las costas de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. Contribución no. 429.

- ☐ Castillo-Rodríguez, Z. G. 1982. Informe de las actividades de la Compañía Imperial sobre el caracol *Purpura pansa* Gould, 1853, en la costa de Oaxaca. Instituto Nacional de la Pesca, SEPESCA. 1-12, 3 láms.
- ☐ Cernohorsky, W. O. 1969. The Muricidae of Fiji. Part II Subfamily Thaidinae. The Veliger. 11:(4)293-315.
- ☐ Cossmann, A. E. 1903. Essais de paeloconchologie comparée. Vol. 5. París. 215 pp.
- Fernández-Uriel, P. 2010. Púrpura del mercado al poder. Universidad Nacional de Educación a Distancia; Madrid, España. 92 pp.
- García-Cubas, A. y M. Reguero. 2004. Catálogo Ilustrado de Moluscos Gasterópodos del Golfo de México y Mar Caribe. ICM y L, UNAM. 168 pp.
- Giese, A. C., J. S. Pearse and H. H. Webber (Eds.). 1977. Reproduction of Marine Invertebrates. Vol I: General Principles, Vol. IV: Gastropoda: Prosobranchia. Academic Press. N. Y. I: 1-97.

- González, A. R y C. Flores. 1972. Nota sobre los géneros *Thais* Roeding, *Purpura*, Brugiere y *Murex* Linnaeus (Neogastropoda: Muricidae) en las aguas costeras de Venezuela. Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente. 11(2): 67-82.
- González, F. O. B. 1997. Contribución al estudio del ciclo gonádico del caracol *Purpura pansa* Gould 1853 (Gastropoda: Prosobranchia) en Mazatlán, Sinaloa. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 87 pp.
- Holguin-Quiñones, O.E. y A.C. González-Pedraza. 1989. Moluscos de la Franja costera del estado de Oaxaca, México. CICICMAR-IPN. La Paz, B.C.S. 221 pp.
- Marine Mollusks from Baja California to Perú. Standford University Press, California. 2nd. ed. 1064 pp.
- Kool, S.P. 1988. Aspects of the Anatomy of *Plicopurpura patula* (Prosobranchia: Muricoidea: Thaidinae), new combination, with Emphasis of the Reproductive System. *Malacología*. 29(2): 373-382.
- Linnaei, C. 1758. Systema naturæ, sive regna tria naturæ systematice proposita per secundum classes, ordines, genera, & species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Salvius Publ (10.ª ed).

- León-Álvarez, H. 1989. Estructura poblacional, producción y tiempo de recuperación del tinte de *Purpura pansa*, Gould, 1853 (*Gastropoda*: *Thaididae*) en algunas playas rocosas de la Bahía Cuastecomate, San Patricio Melaque, Jalisco, México. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. Universidad de Guadalajara. 107 pp.
- □ Naegel, L.C.A. 2004. Laboratory spawning of the purple snail *Plicopurpura pansa* (Gastropoda: Muricidae). *Revista de Biología Tropical*. 52(1): 57-65.
- Periwlinkle. 1987. Age and growth, reproductive cycle, and histochemical test for heavy metals in hard clams, *Mercenaria mercenaria*, from Raritan Bay, 1974-75. Fisheries Bulletin 85(3): 653-662.
- Ríos-Jara, E., E. López-Uriarte, E. G. Robles-Jarero, M. Pérez-Peña e I. Enciso-Padilla. 2004. Recursos Marinos. Caracol de tinte, langosta, huachinango y macroalgas de Jalisco. ISBN 970-27-0561-4. Universidad de Guadalajara, México. 48 pp.
- Turok, M., A. Sigler, E., Hernández, J. Acevedo, R. Lara y V. Turcott. 1988. *El caracol púrpura, una tradición milenaria en Oaxaca*. SEP/DGCP, México. 166 pp.

☐ Turok, M. 1999. El caracol *Purpura pansa*: Un pequeño gran recurso. Programa Cultural Tierra Adentro (Consultado 2 noviembre 2005, http://www.cnca.gob.mx//cnca/buena/descentra/tierra/ mturok.html).

□ Vaught, K. C. 1989. A classification of the living Mollusca. American Malacologists, Melbourne, Florida. XII .189 pp.

□ Voltzow, J. 1994. Gastropoda Prosobranchia. In Microscopic Anatomy of Invertebrates Vol. 5. Mollusca I. In: Edited by F.W. Harrison and A. J. Kohn Wiley-Liss, New York. 111-252.

Webber, H. H. 1977. Gastropoda: Prosobranchia. In: Giese, A.C. and J.S. Pearse (Eds.) Reproduction of Marine Invertebrates. Vol. 4: Mollusca. Academic Press. N. Y. USA. 369 pp.

Wellington, G. M. and A. M. Kuris. 1983. Growth and Shell variation in the tropical eastern Pacific intertidal gastropod genus *Purpura*: Ecological and evolutionary implications. Biological Bull. 164: 518-535.

#### **WEB**

http://biodidac.bio.uottawa.ca