

Guía de trabajos prácticos de Anatomía Comparada de Vertebrados 1. Esqueleto. Generalidades. Cráneo de peces

Ernestina Susana Teisaire¹. Olga Lucrecia Nieto¹. Isabel Adriana Roldán¹.
Zandra Ulloa Kreisel¹. María López Aragón¹. Ana García Moreno².

¹Cátedra de Embriología y Anatomía Comparadas. Facultad de Ciencias Naturales e I.M.L. Universidad Nacional de Tucumán. Miguel Lillo 205 – 4000. S.M. de Tucumán. Argentina.
eteisaire@csnat.unt.edu.ar

²Departamento de Zoología y Antropología Física. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. c/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid. España.
agmoreno@bio.ucm.es

Resumen: En esta práctica se estudiarán los conceptos generales del esqueleto en Vertebrados. Técnicas para su estudio. Se definirán las partes del esqueleto y se desarrollarán las observaciones de los diferentes tipos de cráneos del esqueleto axial.

Palabras clave: Esqueleto. Técnicas de estudio. Esqueleto axial. Esqueleto apendicular. Cráneo. Condrocráneo. Osteocráneo. Neurocráneo. Esplacnocráneo. Dermatocráneo. Vertebrados.

OBJETIVOS

- Aprender las técnicas para el estudio del esqueleto.
- Analizar la evolución del esqueleto en los Vertebrados.
- Reconocer las homologías utilizadas en la reconstrucción filogenética.

MATERIAL BIOLÓGICO

Esqueleto completo diafanizado de: Condrictios (tiburón, raya), Osteictios (Lepidosirens sp, Carassus aunatus, *Nautopaedium porosissimus*, *Astyanax sp.*) Anfibios, Reptiles (tortuga, lagarto), Aves (picaflor), Mamíferos (Xenartra: *Dasyopus sp.*: mulita). Cráneos de tiburón, raya, dorado, pescadilla, pacú. Serie diafanizada del desarrollo de anfibios.

MATERIAL DE LABORATORIO

Bandejas, lupas. Instrumental de disección. Formalina 10%, agua destilada, alcohol absoluto, alcohol etílico, solución de Azul de Alcian, solución de hidróxido de potasio, ácido acético, solución de alizarina, glicerina, cristales de fenol o thymol.

DESARROLLO

Técnicas utilizadas para el estudio del esqueleto

Analizar las ventajas y desventajas de las técnicas utilizadas en el estudio del esqueleto.

Preparación de esqueletos secos (Hipoclorito de sodio, dermestario, manual).

Diafanización y tinción diferencial.

Radiografías.

Cortes histológicos.

Tomografías.

Preparar el material que se le entrega utilizando la técnica de tinción diferencial de Wassersug (1976).

- **Técnica de diafanización y tinción diferencial para cartílago y hueso (Wassersug, 1976)**
 - ✓ Quitar la piel y los ojos del ejemplar a procesar.
 - ✓ Si el material estaba conservado en alcohol colocarlo en [formalina](#) al **10%** (puede ser bufferado con carbonato de calcio) 2-3 días antes de continuar.
 - ✓ Lavar el material en agua corriente por 3-4 horas y luego unos minutos con agua destilada. Secar cuidadosamente con papel absorbente.
 - ✓ Colocar el material en la solución de [Azul de Alcian](#) (tiñe de azul los cartílagos); dejar allí el tiempo necesario; controlar después de por lo menos 2 días.
 - ✓ Sacar el material del Azul de Alcian y colocarlo en [alcohol absoluto](#) de 4 a 5 horas para que se fije mejor el colorante.
 - ✓ Pasar el espécimen por una serie de [alcohol etílico](#) de concentraciones decrecientes (95%, 75%, 40%, 15%) y finalmente por [agua destilada](#) durante por lo menos 2 horas. Especímenes pequeños pueden ser transferidos directamente desde el alcohol absoluto al agua destilada. Especímenes de mayor tamaño pueden requerir de 2 a 3 horas en cada paso.
 - ✓ Colocar por unos minutos el material en una solución de [hidróxido de potasio](#) (esto alcaliniza el material impidiendo que restos del ácido acético de la etapa anterior inactiven la solución de alizarina).

- ✓ Colocar el material en una solución de [alizarina](#) y dejar allí el tiempo necesario. Controlar luego de 2 días.
- ✓ Colocar el material en una solución de [hidróxido de potasio](#) y dejar allí el tiempo necesario para que los músculos se transparenten (no dejar demasiado de lo contrario todas las partes se desarticularán).
- ✓ Finalmente pasar a la [glicerina](#) conservante. Esto se hace a través de una serie gradual (hidróxido de potasio (0,5%) : glicerina (3:1, 1:1, 1:3) hasta glicerina 100%. Dejar al menos 24 horas en cada etapa. Se añaden unas pocas gotas de 3% de agua oxigenada por cada 100 ml de solución en las dos etapas iniciales para ayudar a despigmentar los especímenes donde no se quitó la piel totalmente o quedaron las fascias musculares teñidas.
- ✓ Para terminar se añaden unos pocos cristales de [thymol](#) o [phenol](#) a la glicerina pura para prevenir la formación de bacterias u hongos.

Importante

- ✓ Bufferar la formalina al 10%.
- ✓ Realizar los pasos en series graduales luego del alcohol absoluto y de la maceración con hidróxido de potasio.
- ✓ Se pueden aplicar distintas variantes de esta técnica de tinción según los objetivos que se persigan. Por ejemplo si tenemos que estudiar las cápsulas nasales o los cartílagos orbitales de determinado animal, utilizamos esta técnica sólo teñendo con azul de Alcian. Como control podemos teñir con ambos colorantes. En muchos casos, en los cráneos con demasiada osificación y mineralización, los cartílagos se encuentran enmascarados por el hueso y resulta necesario sólo teñir con Alcian.

Solución de Azul de Alcian

Dos partes de [alcohol absoluto](#) y una parte de [ácido acético](#).
[Azul de Alcian](#) (polvo) hasta alcanzar el color apropiado.

Solución de Hidróxido de Potasio

[Agua destilada](#).
Granallas de [hidróxido de potasio](#) (1/2 cucharada sopera en 250 cc.).

Solución de Alizarina

Polvo de [Rojo de Alizarina S](#).
[Agua destilada](#).

- Al polvo de [alizarina](#) (1/2 cucharadita de café) agregar unas gotas de agua destilada y mezclar con una varilla hasta que quede un líquido espeso de color anaranjado-amarillento.

- Colocar a una solución de **hidróxido de potasio** unas gotitas de la solución de **alizarina** y se verá que el color cambia a púrpura. La solución ya está lista y se puede sumergir en la misma el material.

Estudio de los esqueletos

- Observar **cartílagos** y la **osificación condral** en los esqueletos diafanizados de Condrictios (tiburón, raya), Osteictios (*Lepidosirens sp.*, *Carassus auratus*, *Nautopaedium porosissimus*, *Astyanax sp.*), Anfibios (serie de desarrollo), Reptiles (tortuga, lagarto), Aves (picaflor) y Mamíferos (Xenartra: *Dasyus sp.*: mulita).
- Reconocer y señalar en la figura 1 el esqueleto axial y apendicular, diferenciando las divisiones que constituyen cada región.

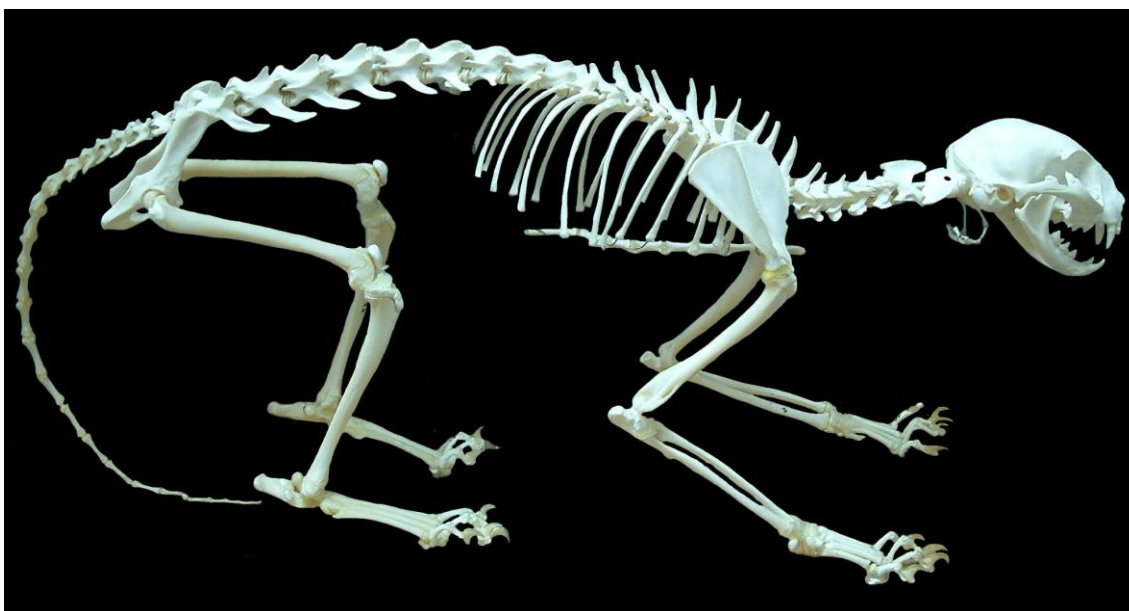


Figura 1. Esqueleto de un mamífero (gato doméstico). Fotografía del ejemplar nº: 8.065.001.001.005, del Museo de Anatomía Comparada de Vertebrados (MACV) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid.

- En las figuras 2 y 3 observar, reconocer y completar las diferentes etapas del desarrollo del **condrocráneo** y **esplacnocráneo** de Vertebrados.

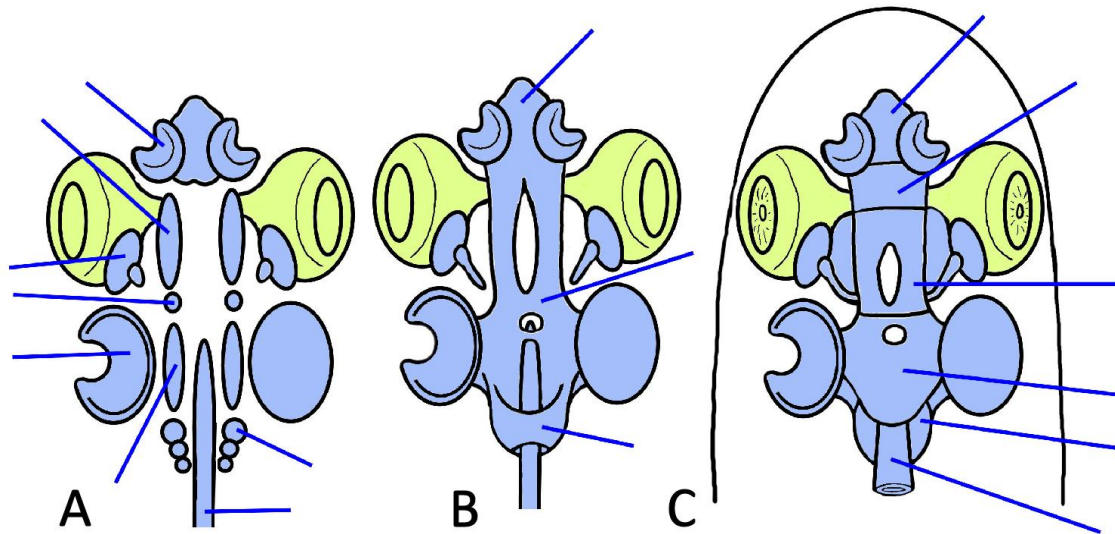


Figura 2. Desarrollo de las diferentes cápsulas craneales. A. Condensación temprana de células mesenquimáticas diferenciadas en cartilago. B. Fusión posterior formando las principales regiones. C. Posterior osificación de estas regiones formando los primeros huesos y cápsulas sensoriales. (Basado en Kardong, 2007).

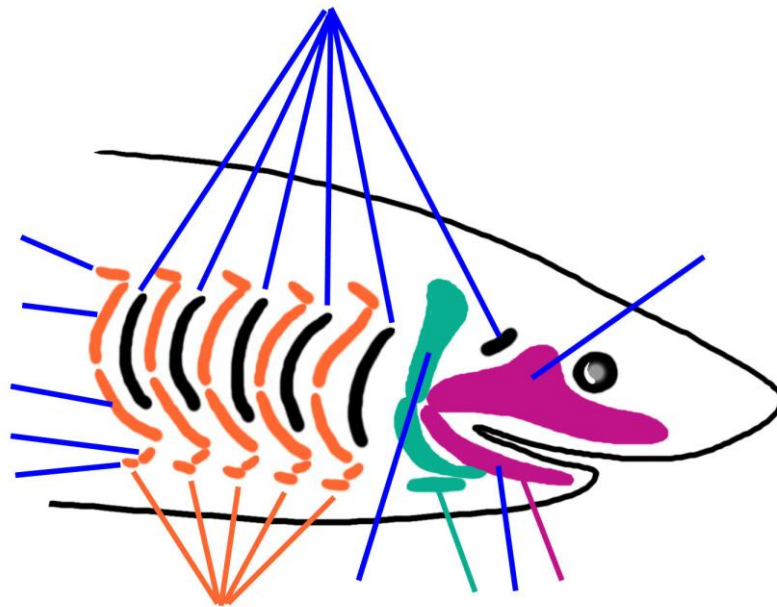


Figura 3. Esplacnocráneo primitivo.

- Con la ayuda del esquema de la figura 4 identificar los tipos de **suspensión mandibular** en los cráneos de Vertebrados que se les provea. Definir y caracterizar cada una.

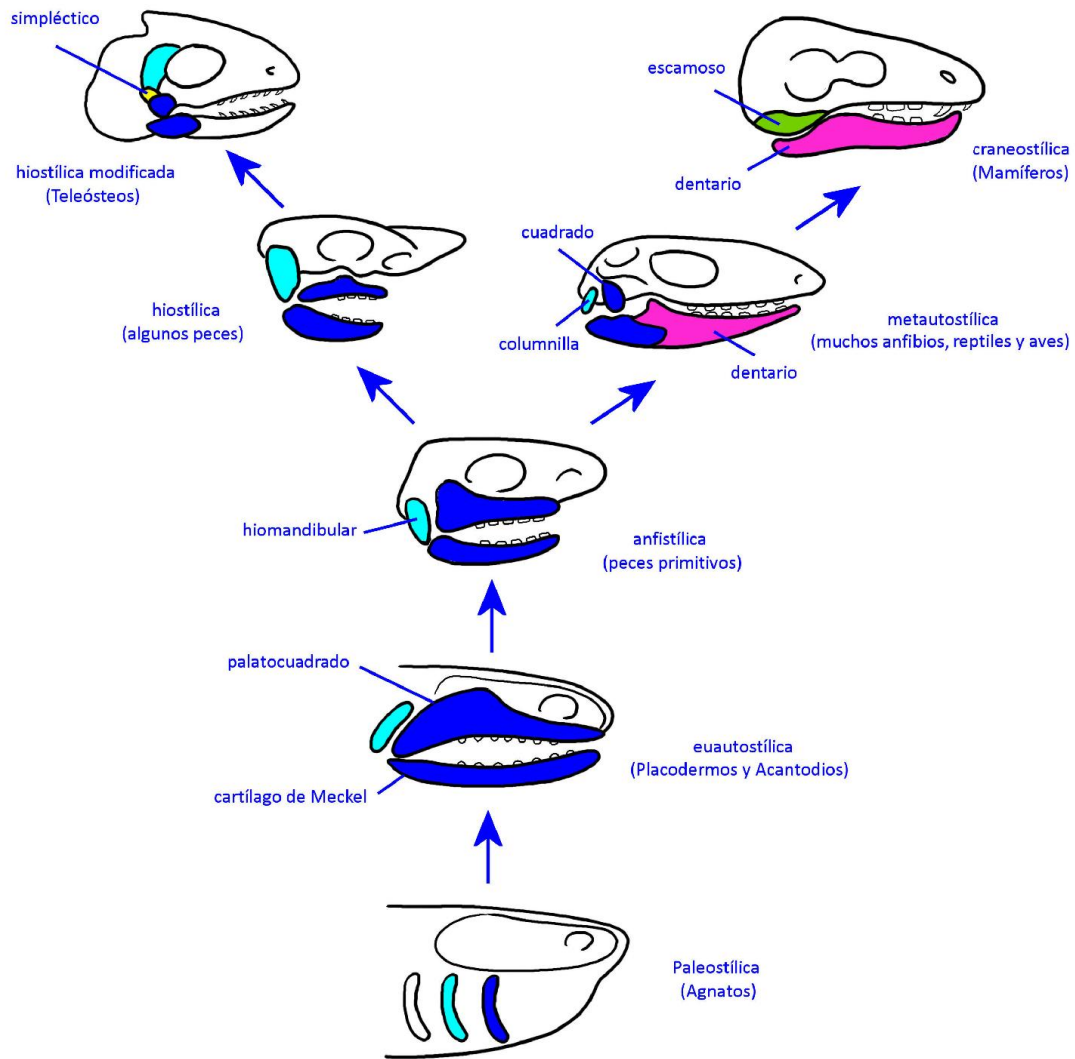


Figura 4. Tipos de suspensión mandibular en los cráneos de Vertebrados. (Basado en Kardong, 2007).

- **Cráneo de Condriktios**

Observar y describir las características del **neurocráneo** de un tiburón (esqueleto seco, Fig. 5 e inclusión, Fig. 6).

- ✓ Tipo de **tejido**.
- ✓ Tipo de **cráneo** (**platibásico** o **tropibásico**).
- ✓ **Regiones** que lo componen.
- ✓ Características de la **unión** con el **esqueleto postcraneal**.



Figura 5. Neurocráneo seco de condictio (*Heptanchus*). A. Vista dorsal. B. Vista ventral. C. Vista lateral derecha. D. Vista frontal.

Observar y describir las características del esplanocráneo de un tiburón (Fig. 5).

- ✓ Tipo de **tejido**.
- ✓ Número de **arcos** que lo componen.
- ✓ Elementos del **primer arco**.
- ✓ Elementos del **segundo arco**.
- ✓ **Suspensión mandibular**.
- ✓ Elementos de los **arcos branquiales**.



Figura 6. Condrocráneo incluido en acrílico. Vista dorsal (arriba), lateral (centro) y ventral (abajo).

Luego de haber trabajado en el práctico con **cráneos** de Condriktios, completar el esquema de la figura 7.

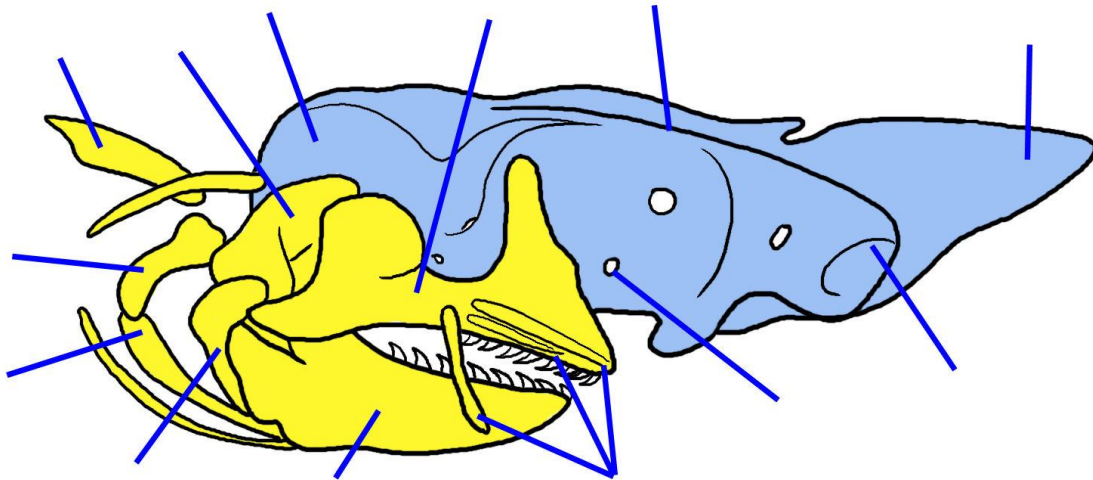


Figura 7. Condrocráneo de tiburón (vista lateral derecha).

- **Cráneo de Osteíctios**

Observar y describir las características del **osteocráneo** de un pez óseo (Figs. 8 y 9).

- ✓ Tipo de **tejido**.
- ✓ Tipo de **cráneo** (**platibásico** o **tropibásico**).
- ✓ **Regiones** del **osteocráneo**, mencione en conjunto los elementos que participan en su formación.
- ✓ **Unión** con el **esqueleto postcraneal**.

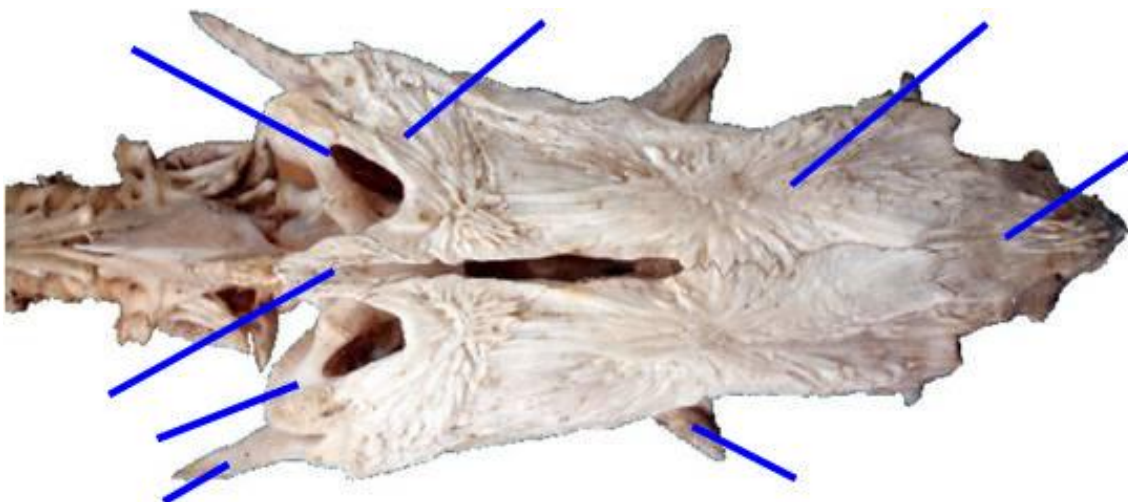


Figura 8. Neurocráneo de osteíctio (*Salminus sp.*), vista dorsal.

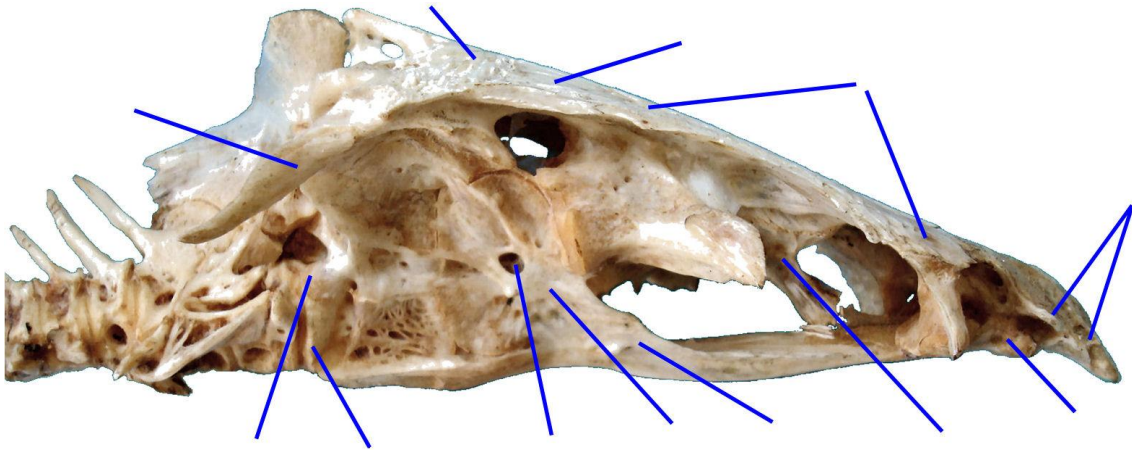


Figura 9. Neurocráneo de osteíctio (*Salminus sp.*), vista lateral.

Reconocer los elementos del cráneo en pez óseo (NV: Pacú) (Figs. 10 y 11).

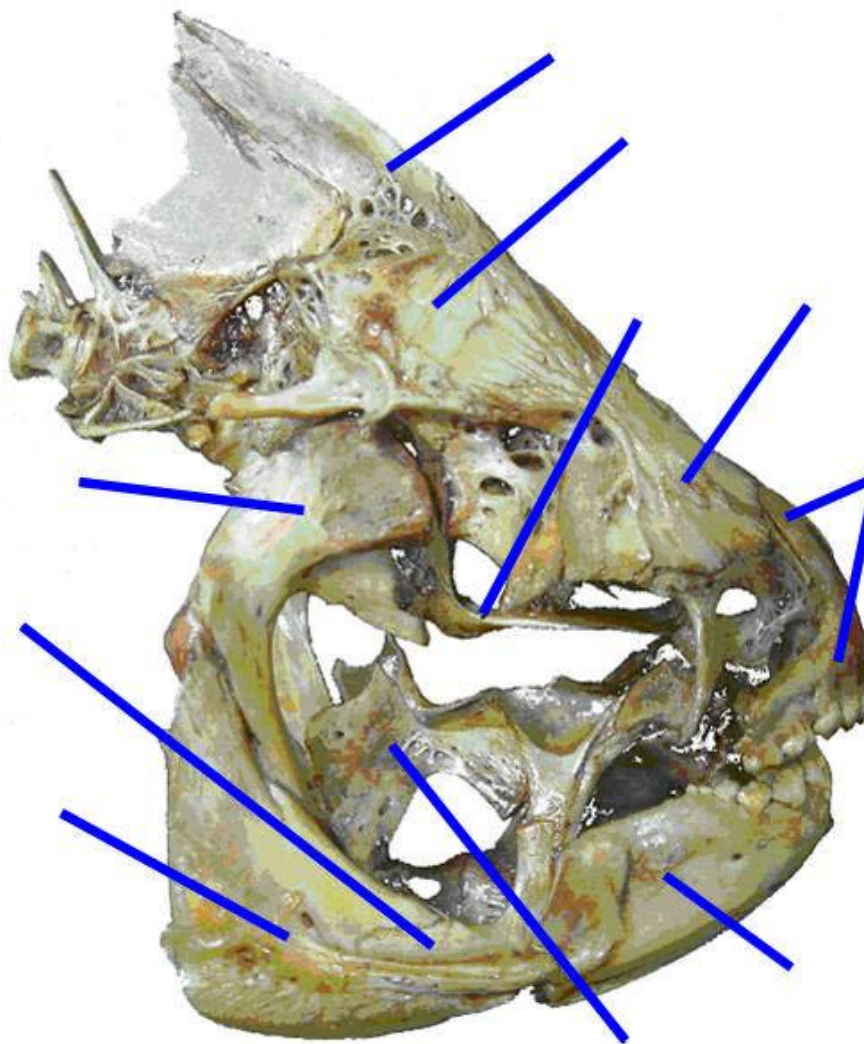


Figura 10. Cráneo en pez óseo (Pacú), vista lateral.

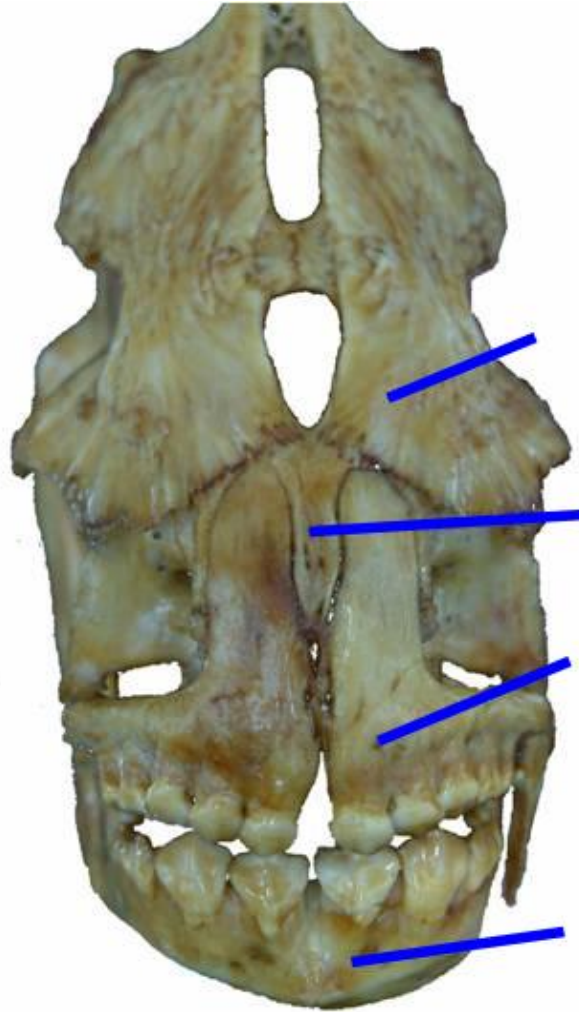


Figura 11. Cráneo en pez óseo (Pacú), vista frontal.

Con la ayuda del material que se le provee en el práctico, señalar en la imagen del cráneo de pez Dorado de la figura 12, series de huesos operculares y orbitales, premaxilar, maxilar, etmoide, frontal, parietal, supraoccipital, cuadrado, articular y angular.

Observar y describir las características del esplacnocráneo de un pez óseo (Figs. 13 y 14).

- ✓ Tipo de tejido.
- ✓ Número de arcos que lo componen.
- ✓ Elementos del primer arco.
- ✓ Elementos del segundo arco.
- ✓ Suspensión mandibular.
- ✓ Elementos de los arcos branquiales.



Figura 12. Dermatocráneo de *Salminus brasiliensis*, vista lateral.

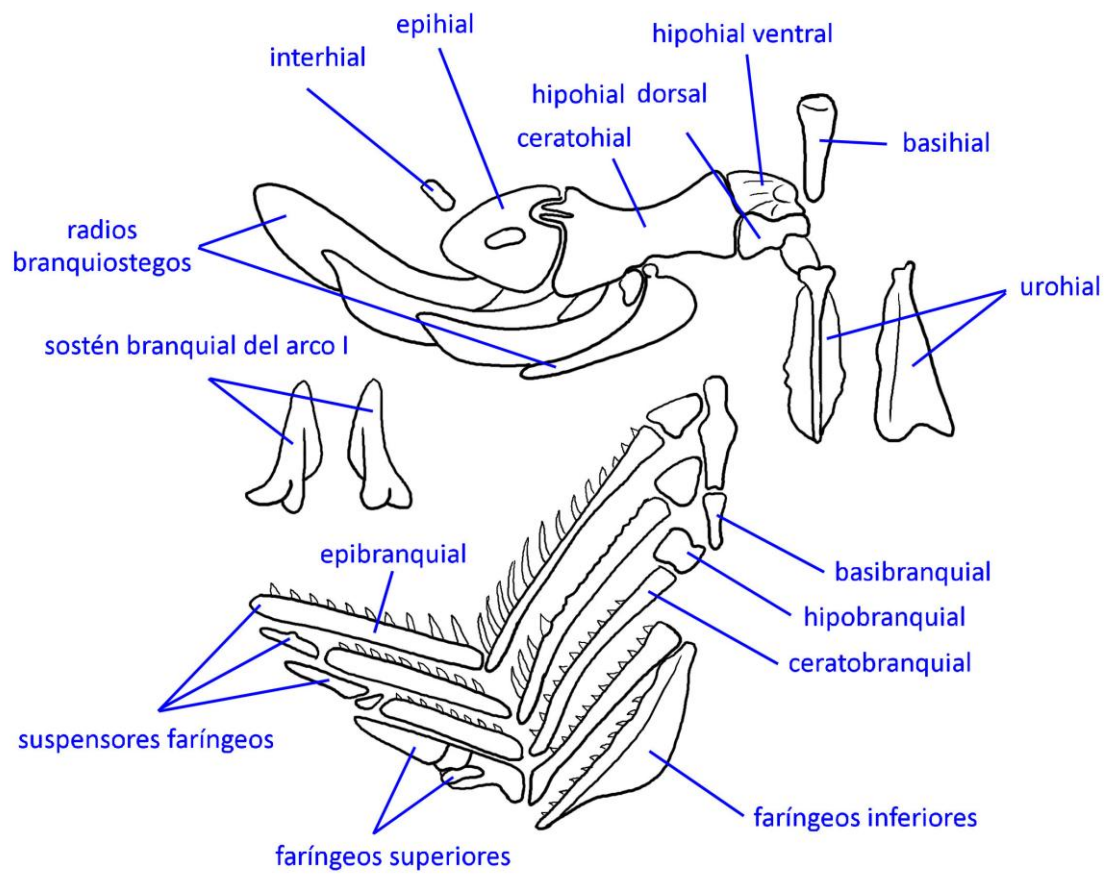


Figura 13. Arcos hiobranciales de *Salminus brasiliensis*. Los elementos branquiales más dorsales han sido levantados hacia un costado.



Figura 14. Huesos de la serie circumorbital, opercular y parte inferior de la cintura escapular de *Salminus brasiliensis*.

BIBLIOGRAFÍA

Kardong, K. V. 2007. *Vertebrados. Anatomía Comparada, Función, Evolución*. Ed. Mc.Graw-Hill. Interamericana, 4ª ed., 732p.

Wassersug, R. J. 1976. A Procedure for Differential Staining of Cartilage and Bone in Whole Formalin-Fixed Vertebrates. *Biotechnic & Histochemistry*, 51(2): 131-134.

BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA

- Freeman, W.H. y Bracegirdle, B. 1967. *An Atlas of Embriology*. Heinemann educational Books, London. 2ª ed., 107 p.
- Biggers, J.D. y Schuetz, A.W. 1972. Oogenesis. *Proc. of a Symposium on Oogenesis held in Baltimore, Maryland*. Univ. Park. Press., Baltimore and Butterworths, London, IV+543 p.
- De Robertis, E.D.P. y De Robertis, E.M.F. 1981. *Biología Celular y Molecular*. Ed. El Ateneo, 10ª ed., Bs. As., 613 p.
- Dovzhansky, T.; Ayala, F.J.; Stebbins, G.L. y Valentine, J.W. 1980. *Evolución*. Ed. Omega S.A., Barcelona, 558 p.
- Gavrilov, K. 1958. *Curso de Anatomía y Fisiología Comparadas*. Univ. Nacional de Tucumán, Tucumán.
- Gilbert, S. F. 2005. *Biología del Desarrollo*. 7ª ed. Ed. Médica Panamericana S.A., Bs. As., Argentina. 881 pp.
- Grasse, P.P. 1976. *Zoología, Vertebrados - Anatomía Comparada*. Tomo 2, Ed. Masson et Cie. 184 pp.
- Houillon, C. 1978. *Sexualidad*. Ed. Omega S.A., Barcelona, 3ª ed. Colección Métodos, 202 p.
- Houillon, C. 1980. *Embriología*. Ed. Omega S.A., Barcelona, Colección Métodos, 184 p.
- Lodish, H.; Berk, A.; Matsudaira, P; Kaiser, CA.; Krieger, M; Scott, M.P.; Zipursky, S.L. y Darnell, J. (2008). *Biología Celular y Molecular*. 5ª ed. (2ª reimpresión). Bs. As., Argentina. Ed. Médica Panamericana S.A. 973 pp. + 55 pp
- Lovtrup, S. 1977. *The Phylogeny of Vertebrata*. John Wiley and Sons ed., 330 p.
- Montero, R. y Autino, A.G. 2009. *Sistemática y filogenia de los Vertebrados. Con énfasis en la fauna argentina*. 2ª ed. Tucumán, Argentina. 414 pp.
- Moore, K.L. 1985. *Embriología Básica*. 2ª ed. Nueva Editorial Interamericana, México. 286 pp.
- Pirlot, P. 1976. *Morfología Evolutiva de los Cordados*. Ed. Omega S.A., Barcelona. 996 pp.
- Pisanó, A. 1977. *Tópicos de Embriología*. Fund. para la Educ. y la Cultura, Bs. As., Argentina, 330 p.

- Romer, A.S. 1973. *Anatomía Comparada (Vertebrados)*. Ed. Interamericana, México - Argentina. 453 pp.
- Sadler, T.W. 1987. Lagman, *Embriología Médica*. Ed. Médica Panamericana, S.A., Bs. As., 424 p.
- Schwartz, V. 1977. *Embriología Animal Comparada*. Ed. Omega S.A., Barcelona, 417 p.
- Torrey, T.W. 1978. *Morfogénesis de los Vertebrados*. Ed. Limusa, México, 3 ed., 576 p.
- Wake, M.H. (ed.). 1979. *Hyman's comparative vertebrate anatomy*. 3ª ed., The Univ. of Chicago Press, Chicago -London, 787 p.
- Weichert, C.K. y PRESCH, W. 1981. *Elementos de la anatomía de los Cordados*. 2ª ed. Mac Graw Hill de Méjico. 531 pp.
- Wischnitzer, S. 1980. *Atlas y guía de laboratorio de embriología de Vertebrados*. Ed. Omega, S.A., Barcelona, 154 p.

BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA ESPECIALIZADA

- Bacetti, B. (ed.). 1970. *Comparative Spermatology*. Accademia Nazionale Dei Lincei-Rome. Academic Press. N.Y.- London.
- Billett, F.S. y Wild, A.E. 1975. *Practical Studies of Animal Development*. Chapman and Hall, London. 251 p.
- Bock, W. J. y Shear. 1972. A staining method for gross dissection of vertebrate muscle. *Anat. Anz.*, 130: 222-227.
- Dettlaff, T.A. y Vassetzky, S.G. (eds.). 1991. *Animal species for developmental studies. Vol. 2. Vertebrates*. Consultants Bureau, New York. 453 p.
- Fawcett, D.W. y Bedford, J.M. (eds.). 1979. *The spermatozoon*. Urban and Schwarzenberg, Baltimore-Munich. 441 p.
- Knobil, E. y NEILL, J. (eds.). 1988. *The physiology of reproduction*. Raven Press, Ltd., New York. 185 p.
- Mahoney, R. 1973. *Laboratory techniques in Zoology*. 2nd. ed., Butterworth & Co. (Publ.), London. 518 p.
- Srivastava, M.D.L. 1965. Citoplasmic inclusions in oogenesis. *International Review of Cytology*, 18: 73-98.

Recibido: 12 diciembre 2009.

Aceptado: 19 abril 2010.