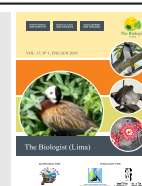




## The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

### EMBRYONARY DEVELOPMENT DESCRIPTION OF *PHYSA CUBENSIS* (PFEIFFER, 1939) (PULMONATA: PHYSIDAE), IN THE PLATEAU OF BOGOTÁ, COLOMBIA

### DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DE *PHYSA CUBENSIS* (PFEIFFER, 1939) (PULMONATA: PHYSIDAE), EN LA SABANA DE BOGOTÁ, COLOMBIA

Julian Yessid Arias-Pineda<sup>1,2,3</sup>; Diana Correa<sup>3</sup>; Ingrid Linares<sup>3</sup> & Laura Moreno<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Grupo de investigación en artrópodos “KUMANGUI”, Bogotá, Colombia

<sup>2</sup>Laboratorio de Zoología y Ecología Acuática LAZOE. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

<sup>3</sup>Licenciatura en Biología. Universidad Distrital Francisco José De Caldas, Bogotá, Colombia.

Corresponding author: E-mail: dianacorrea7@outlook.com (D. Correa)

## ABSTRACT

The embryonic development of *Physa cubensis* (Pfeiffer, 1939) mollusk is described. The collection of eggs took place in different bodies of water from the savanna of Bogotá, Colombia during 2017 and 2018 in the months of November to April. Searches were made among the leaves and stems of macrophytes, as well as sticks and stones. A total of 70 egg laying sites were identified and about 858 eggs were evaluated. Nine embryonic stages were identified: fertilized egg, cleavage of two cells, four cells, eight cells, thirty-two cells, initial and late blastula, initial and late gastrula, Trochophore and veligers larvae. These freshwater organisms, due to their rapid embryonic development, as well as the large number of eggs deposited during each spawning, demonstrate overpopulation, and thus potential for becoming a pest.

**Keywords:** embryogenesis – gastropoda – life cycle – *Physa cubensis*

## RESUMEN

Se describió el desarrollo embrionario del molusco *Physa cubensis* (Pfeiffer, 1939). La colecta de huevos tuvo lugar en tres cuerpos de agua de la sabana de Bogotá, Colombia, durante el 2017 y el 2018, se buscó entre las hojas y tallos de macrófitas, además de palos y piedras. Se realizó un montaje total de 70 puestas de huevos y se evaluaron alrededor de 858 huevos. Se identificaron nueve estadios embrionarios: huevo fecundado, clivaje de dos células, cuatro células, ocho células, treinta y dos células, blástula iniciales y tardías, gástrulas iniciales y tardías, larvas trocófora y veliger. Estos organismos dulceacuícolas por su rápido desarrollo embrionario; así como la gran cantidad de huevos que se depositan en cada desove, demuestran la superpoblación que estos mismos generan, llegando a ser una plaga.

**Palabras clave:** ciclo de vida – embriogénesis – gastropoda – *Physa cubensis*

## INTRODUCCIÓN

La familia Physidae es nativa de Europa, norte de Asia, América, así como África occidental. (Lydeard *et al.*, 2016). La estructura filogeográfica y poblacional de estos gasterópodos, indica que invadieron Europa occidental hace más de 200 años, mientras que en el hemisferio sur, estas invasiones ocurrieron en los últimos 20-80 años (Ebbs *et al.*, 2018). En la actualidad la familia cuenta con alrededor de 80 especies, en hábitats fácilmente accesibles como zanjas, lagunas, lagos, pequeños arroyos y ríos (Taylor, 2003). La familia ha sido reconocida como tal, por más de un siglo; sin embargo, la poca información y estudios morfológicos cuidadosos es una causa principal de la falta de conocimiento de muchas de las especies mundiales (Duncan, 1959; Lowe & Hunter, 2002; Taylor, 2003; Paraense & Pointier, 2003; Lydeard *et al.*, 2016).

Para la región neotropical el género *Physa* (Draparnaud, 1801), es habitante común de quebradas, ríos, arroyos y charcas de aguas poco agitadas, activos sobre hojarasca, piedras, troncos, macrófitas, algas, o en algunas ocasiones en los fondos lodosos donde pasaban desapercibidos. La gran mayoría de estos caracoles son herbívoros, sin embargo, se han datado casos de depredación y canibalismo, además de ser presa de diferentes organismos como insectos, peces, anfibios y aves, siendo un eslabón importante en las cadenas tróficas de los ecosistemas donde se encuentran (Español, 1967; Iannacone *et al.*, 2002; Lydeard *et al.*, 2016).

Estos caracoles tienen una duración de vida entre 22 y 88 semanas, posterior a la eclosión, de los cuales, la edad de la primera reproducción y oviposición se encuentra en un rango de 28 y 42 días (Nuñez, 2011; Saha *et al.*, 2017). En hábitats regidos por los cambios estacionales, se ha registrado que el tiempo de reproducción se da en otoño y primavera. La dinámica poblacional depende de las condiciones ambientales y la permanencia o temporalidad de los cuerpos de agua en los que habitan, siendo primavera y verano épocas en donde la población es mayor, mientras que en invierno ésta disminuye (Maqboul *et al.*, 2014).

La embriogénesis de estos individuos sigue un desarrollo de tipo directo, a partir de huevos fertilizados hasta caracoles juveniles dentro de una cápsula llena de un fluido perivitelino albuminoide (Kuang *et al.*, 2002). Los huevos son de tipo teleocitos y presentan una segmentación en espiral (Matzunaga *et al.*, 2010). En sus estadios se presenta una etapa larval característica de todos los moluscos, la larva trocófora y velíger (Brusca & Brusca, 2003; Biggs *et al.*, 2012).

Algunos moluscos dulceacuícolas se constituyen como hospederos intermediarios en la cadena de transmisión de muchos helmintos parásitos, como lo es *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) y *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935). Por tanto, el control de la población de moluscos es crucial para garantizar una disminución en la probabilidad de transmisión de estos parásitos. Siendo éstos, organismos de importancia médica y salud pública. En Silvia, Cauca, Colombia, se ha determinado que los caracoles con mayor predominancia en cuerpos de agua dulce evaluados, pertenecen al género *Physa* (Perera *et al.*, 1981; Sarmiento *et al.*, 2010; Fernández. *et al.*, 2012). La abundancia de este género en los cuerpos de agua dulce radica en la disposición de grandes cantidades de plantas sumergidas en dichos lugares y en factores abióticos del agua, tales como, la dureza, salinidad, acidez y alcalinidad, haciendo que la densidad poblacional fluctúe en dependencia de sus valores (Vásquez & Gutiérrez, 2007).

*Physa* es empleada para una amplia gama de estudios ecotoxicológicos (Bernot *et al.*, 2009; Arthur & Leonard, 2011; Hernandez *et al.*, 2017). Por otra parte, se han desarrollado estudios que evidencian a este género de caracol como una potencial plaga (Hurtado & Pérez, 2017); sin embargo, no se han adelantado trabajos sobre el desarrollo embrionario y se encuentran escasos registros respecto a su reproducción y ciclo de vida. Por tal razón el objetivo de este trabajo fue describir el desarrollo embrionario de *Physa cubensis* (Pfeiffer, 1939), en la sabana de Bogotá, Colombia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las colectas de las puestas del caracol *P. cubensis*,

se realizaron durante el 2017 y el 2018, entre las 6:00 y 9:00 am, en diferentes cuerpos de agua de la ciudad de Bogotá, Colombia (4°36'38.8"N 74°03'56.1"W), tales como, el humedal Jaboque, ubicado en la localidad de Engativá, con una humedad relativa del 80% y una temperatura promedio de 13,4°C; el humedal La Conejera, ubicado en la localidad de Suba, con una humedad relativa del 64,3% y una temperatura promedio de 12,6°C y el humedal Capellanía, ubicado en la localidad de Fontibón, con una humedad relativa del 75% y una temperatura promedio de 13,4°C (Moreno *et al.*, 2016), mediante métodos de colecta manuales y con nasas de pesca.

Las puestas de huevos fueron encontradas adheridas a diversos sustratos como hojas de *Hydrilla verticillata* (Langeland, 1996), *Eichhornia crassipes* (Marts y Solms, 1883), *Cyperus articulatus* (Linneo, 1753), rocas, troncos y ramas.

Las muestras fueron transportadas en frascos de vidrio de 5,5 cm de diámetro y 7 cm de alto con agua limpia, etiquetados y rotulados para luego ser embalados en neveras de icopor a los laboratorios de invertebrados y biología del desarrollo de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia y luego examinadas bajo un estéreo microscopio marca Zeiss 2000® y un microscopio marca Leica DM500®, además con este último se realizó el respectivo registro fotográfico.

Una vez observadas las muestras de agua y evidenciando la presencia de las puestas de los caracoles, además de que estuvieran vivas, se procedió a examinarlas, extrayendo la capa de ganga de cada sustrato por medio de pinzas y laminillas.

Para examinar cada muestra se realizaron los montajes de cada una de las puestas en láminas realizando los respectivos puentes de observación. La clasificación de los estadios se realizó mediante literatura especializada (Matzunaga *et al.*, 2010). Finalmente se tomaron 6 mediciones por cada estadio embrionario, para así, determinar el tamaño promedio de éstos.

El permiso de colecta fue en base a la resolución 0738 del 08 de julio del 2014 con número de aprobación 1301454370110011110 del Ministerio de Ambiente y la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Colombia.

## RESULTADOS

Se encontraron 70 cápsulas conteniendo alrededor de unos 858 huevos. Estas presentaron una asociación evidente en rocas, y hojas de *H. verticillata*, *E. crassipes* y *C. articulatus*, en donde la mayor cantidad de puestas de huevos se hallaron entre las 8:00 y 9:00 am, mientras que entre las 6:00 y 7:00 am se hallaron menos.

Se diferenciaron 9 estadios embrionarios: Huevo fecundado, 2 células, 4 células, 8 células, 32 células, blástula, gástrula, trocófora y veliger. (Figura 1A-I, Figura 2A-I).

En cada una de las mismas también se encontró un promedio de entre 10 a 25 huevos separados unos de otros por las membranas de fecundación, además de evidenciarse que en dos puestas existen diferentes estadios del desarrollo (Figura 3- B y D).

Las cápsulas evaluadas presentaron una envoltura doble de consistencia mucilaginoso compuesta de una sustancia albuminoide incolora.

### Estadios embrionarios de *Physa cubensis*

**Huevo fecundado.** Estadio caracterizado por el evidente proceso mitótico en su interior. Es observable la membrana de fecundación, el espacio perivitelino, y el anillo de actina característico durante el proceso de citocinesis. Además se puede observar que el volumen y tamaño celular es el mismo que las gástrulas que se encuentran a su alrededor (Figura 1A).

**Clivajes de 2 células.** El clivaje es el proceso embrionario que ocurre una vez finaliza la fecundación. Se caracteriza por una serie de divisiones celulares mitóticas simétricas. El clivaje de 2 células se caracteriza por la aparición de dos blastómeras AB Y CD, siendo esta última de mayor

tamaño que la otra y presentando mayor cantidad de citoplasma. Se sigue observando la presencia de la membrana de fecundación, el espacio perivitelino. No se observan movimientos aún (Figura 1B-D).

**Clivaje de 4 Células.** Estadio caracterizado por la presencia de 4 células o blastómeras con el mismo tamaño y forma. Se sigue observando la presencia de la membrana de fecundación, el espacio perivitelino. No se observan movimientos aún (Figura 1E).

**Clivaje de 8 Células.** Estadio caracterizado por la presencia de 8 células o blastómeras, en este estadio aparece una diferenciación evidente de las mismas, aparecen macrómeras y mesómeras, iniciando el proceso de espiralización evidente del desarrollo de los moluscos y anélidos (Lofotrocozoos). Se sigue observando la presencia de la membrana de fecundación, el espacio perivitelino. No se observan movimientos aún (Figura 1F).

**Clivaje de 32 células o mórula.** Estadio caracterizado por la presencia de 32 células o blastómeras, en este estadio aparece una diferenciación evidente de las mismas, con micrómeras, macrómeras y mesómeras, iniciando el proceso de espiralización evidente del desarrollo de los moluscos y anélidos (Lofotrocozoos). Inician los movimientos del embrión, no los morfogenéticos de gastrulación. Se sigue observando la presencia de la membrana de fecundación, el espacio perivitelino. No se observan movimientos aún (Figura 1G-H).

**Blástula:** La blastulación en los caracoles y en la mayoría de los moluscos se caracteriza por la aparición del primer tejido embrionario, el blastodermo, originado a partir de las blastómeras. En los primeros estadios de blastulación, las blastómeras aún son evidentes, encontrando las micrómeras, mesómeras y macrómeras. En este caso las micrómeras están en el exterior y en el interior las macrómeras con gran cantidad de vitelo. No se observa la presencia de blastocele, es decir, es una cavidad virtual, por ende se conoce con el nombre de estereoblástula (Figura 1I, Figura

2A).

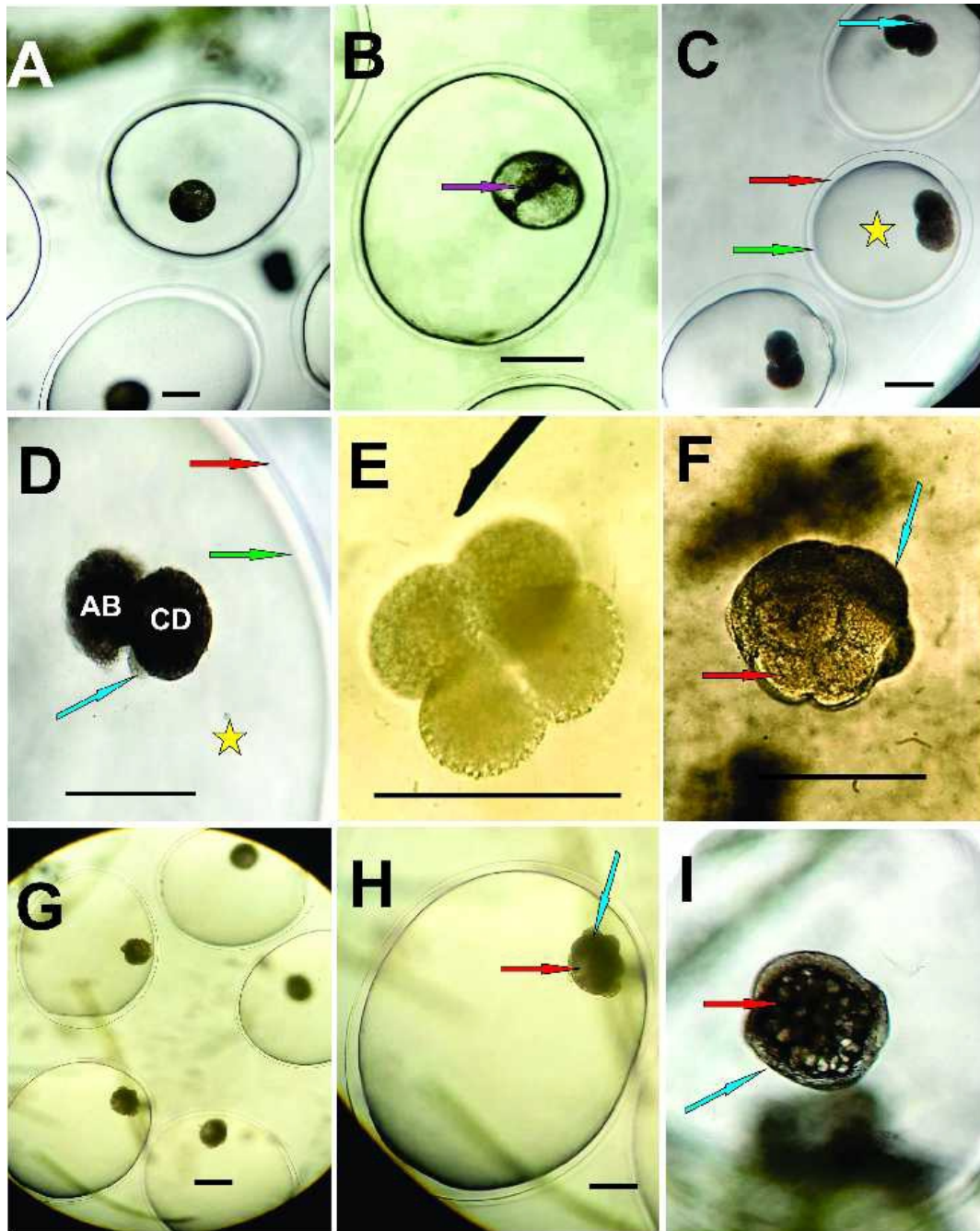
**Gástrula:** Estadio caracterizado por el cambio de forma del embrión, inicio de los movimientos morfogenéticos, en el caso de caracoles epibolia. En el embrión es observable el blastoporo, el ectodermo en diferentes etapas de epibolia, y en su interior las macrómeras con gran cantidad de vitelo. En los embriones observados se pueden distinguir dos etapas de gástrula embriones al 80% y 90% de epibolia (figura 2B-D).

**Estadios larvales:** se evidenciaron procesos de cefalización y organogénesis en el embrión. Estos procesos fueron observados con facilidad antes de la eclosión del embrión. (figura 2E-I). Se observan tres tipos de larvas en el desarrollo embrionario de *P. cubensis*.

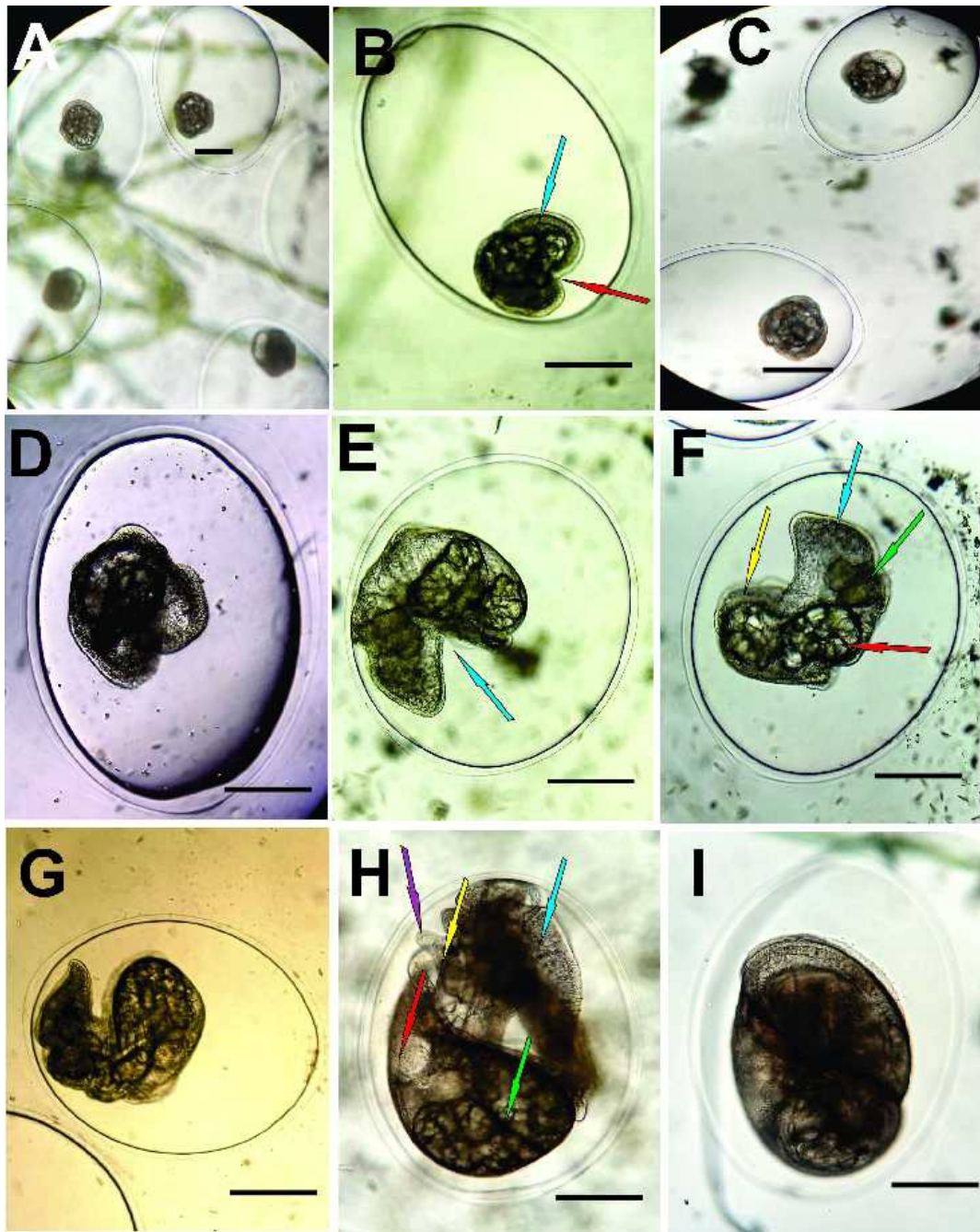
**Trocófora:** La larva trocófora en caracoles de agua dulce posee una forma alargada en disposición de media luna, en su interior se pueden observar las acumulaciones de vitelo, en lo que se conocerá posteriormente como el mesodeo (Figura 2E). Posteriormente, en esta larva desarrolla los esbozos de los primeros órganos entre los que se encuentran: Corazón, musculatura, especialmente el músculo retractor del pie y tentáculos, esbozo del pie, formación de las vísceras, tanto el estómago como el hepatopáncreas, aparición de la torsión de las vísceras además de la concha (Figura 2F).

**Veliger:** La larva veliger se caracteriza por el desarrollo más claro de los órganos a partir de los esbozos de los mismos. Se observan con claridad la presencia del corazón con su aurícula y ventrículo en pulsación. Aparición de los tentáculos y manchas oculares. Torsión visceral evidente, en su interior se puede apreciar la presencia de pequeñas gotas de vitelo. Alrededor del pie se pueden observar pequeños cilios en movimiento y pequeñas contracciones del pie (Figura 2 G-H).

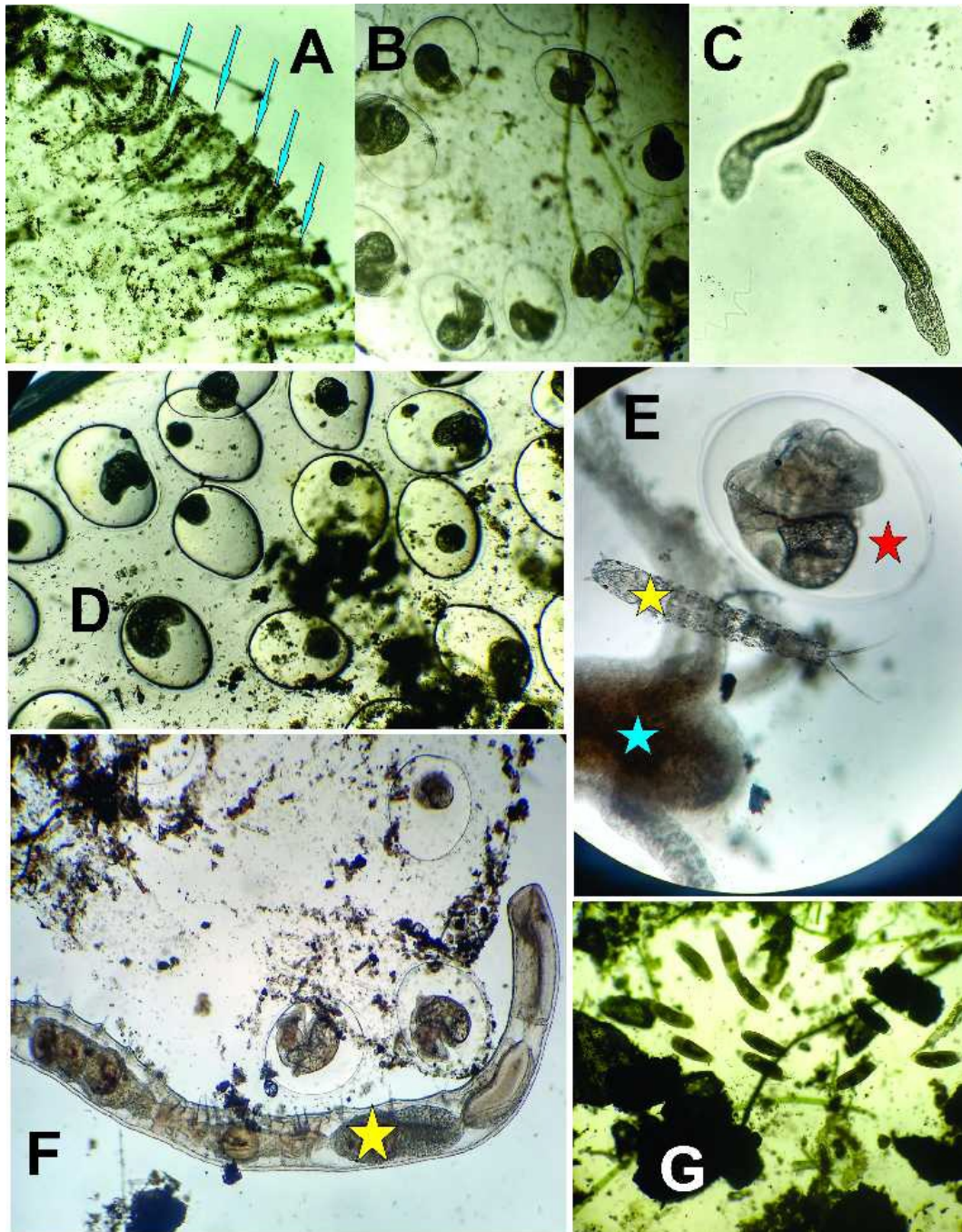
**Postlarva:** También conocido como estadio de pre eclosión, se caracteriza por la formación final del caracol, es una versión pequeña del adulto, ya tiene la capacidad de retracción del pie al interior de la concha, concha desarrollada y órganos desarrollados completamente.



**Figura 1.** Etapas del desarrollo observadas y descritas de *Physa cubensis* en cuerpos de agua de la sabana de Bogotá. Desde huevo fecundado hasta la formación de la estereoblástula **A.** Huevo fecundado, se puede observar la membrana de fecundación y espacio perivitelino, 188  $\mu$ m. **B.** Huevo en el inicio del primer clivaje, flecha morada indica el plano de división, aparición del anillo contráctil. 188  $\mu$ m. **C.** Primer clivaje, aparición de dos células. Flecha roja indica la membrana de fecundación, flecha verde membrana coriónica, estrella amarilla espacio perivitelino, flecha azul dos blastómeras. 188  $\mu$ m. **D.** Segundo clivaje, blastómera AB Y CD típica de los moluscos. Blastómera CD con presencia de cuerpo polar, indicado con la flecha azul, flecha verde membrana coriónica, flecha roja membrana de fecundación. **E.** Segundo clivaje, cuatro células, todas las blastómeras de este clivaje son del mismo tamaño. 188  $\mu$ m. **F.** Tercer clivaje ocho células, clivaje desigual, aparición de Macrómeras y mesómeras, las primeras indicadas con la flecha azul, y las últimas con la flecha roja. 188  $\mu$ m. **G.** se observan cinco huevos en transición de clivajes a blastulación 188  $\mu$ m. **H.** Mórula, el número de células en este momento es de 32, se observa la forma espiralada característica del embrión en esta etapa, flecha roja micrómeras y flecha azul macrómeras. 188  $\mu$ m. **I.** Estereoblástula típica de moluscos, flecha roja macrómeras (blastodermo) con gran cantidad de vitelo, flecha azul micrómeras (blastodermo). 188  $\mu$ m.



**Figura 2.** Etapas del desarrollo observadas y descritas de *Physa cubensis* en cuerpos de agua de la sabana de Bogotá. Desde inicio de la gastrulación hasta la formación de la postlarva. **A.** Inicio de la gastrulación, se observan cuatro huevos en etapa de transición entre estereoblástula a gastrulación. 188  $\mu\text{m}$ . **B.** Gástrula en un 80% de epibolia, Flecha azul, ectodermo en epibolia, formando los labios dorsal y ventral, flecha roja blastoporo. 250  $\mu\text{m}$ . **C-D.** Embrión en un 90% de epibolia, en el interior se puede observar el vitelo y la formación del endodermo. 250  $\mu\text{m}$ . **E.** finaliza la gastrulación se inicia el proceso de organogénesis, aparición de la larva trocófora, flecha azul blastoporo. 270  $\mu\text{m}$ . **F.** Larva trocófora en proceso de organogénesis. Flecha azul indica el primordio del pie, flecha verde, formación del músculo retractor del pie, flecha roja, el esbozo del corazón, flecha amarilla, esbozos de la cavidad visceral, 276  $\mu\text{m}$ . **G-H.** Aparición de la larva Veliger, Flecha roja, corazón con ventrículo y aurícula, Flecha verde, vísceras (se logran observar gotas de vitelo), flecha azul, pie formado, flecha amarilla, aparición del ojo y flecha morada, tentáculo ocular, 560  $\mu\text{m}$ . **I.** Post larva, se observa la formación final de la concha. 569  $\mu\text{m}$



**Figura 3.** Algunos organismos que quedan adheridos a la capa protectora de ganga producida en el oviducto de la hembra de *Physa cubensis*. **A-B** flechas azules indican gran cantidad de Chironomidos adheridos a las puestas de huevos. **C.** Platelminetos del género *Stenostomun* y *Macrostomun* adheridos a la ganga de las puestas de Huevos. **D.** Fotografía en la que se puede observar huevos en diferentes estadios de desarrollo y a su alrededor las algas y animales que quedan adheridos a la ganga, función protectora de los huevos. **E.** Estrella roja, larva veliger en sus últimas etapas de desarrollo, estrella amarilla, larva de chironomidae adherida a la ganga, Flecha azul, cnidario del género *Hydra*, adherido a la capa de ganga. **F.** Flecha amarilla, presencia de anélidos del género *Chaetogaster*. **G.** Fotografía de diferentes protozoarios y micro crustáceos adheridos a las capas de ganga.

**Tabla 1.** Tamaño promedio de los estadios embrionarios de *Physa cubensis*. De = Desviación estándar.

Estadio	Tamaño ( $\mu\text{m}$ )/ cápsula						Promedio( $\mu\text{m}$ )	DE	Rango
Huevo fecundado	189	188	186	185,5	190	188,5	187,83	1,75	0,71
2 células	188	186	185	190	189	187,5	187,58	1,85	0,86
4 células	162,5	161	163	160	163	162	161,91	1,20	0,71
8 células	188	187	188	186	190	189	188	1,41	0,42
Mórula	188,5	187	187	189	188	191	188,41	1,49	0,71
Blástula	188	189	187	190	188	188	188,33	1,03	0,28
Gástrula	250	251	250	249	252	251,5	250,58	1,11	0,28
Trocófora	276	274	275	277	276,5	278	276,08	1,42	0,42
Veliger	560	561	560	559	558	561	559,83	1,16	0,42
Postlarva	569	570	571	569,5	568	567	569,08	1,42	0,71

Es importante resaltar que en todos los estadios se evidenció la rotación del embrión gracias a la presencia de cilios en su superficie. Por otra parte, la ubicación de cada embrión dentro del huevo fue diferente en cada uno de éstos independientemente del estadio en el que se encontraran.

En las puestas de los huevos se evidencia una capa gelatinosa externa protectora denominada ganga con gran cantidad de organismos adheridos a ella, entre los que se observó protozoos pertenecientes a los géneros *Paramecium* Müller, 1773, *Trachelius* Schrank, 1803, *Colpoda* O.F. Müller, 1773, *Stylonychia* Ehrenberg, 1830, *Bursaria* y *Metopus* O.F. Müller 1773; platelmintos del género *Stenostomum* Schmidt, 1848, anélidos del género *Chaetogaster* Von Baer, 1827, larvas de la subfamilia Tanypodinae (Chironomidae), cnidarios del género *Hydra* Linnaeus, 1758, nematodos y Copépodos ciclopoideos, Cladóceros del género *Ceriodaphnia* Dana, 1853 y ostrácosos del género *Cypris* O.F. Müller, 1776 (Figura 3 A, C, E, F Y G).

## DISCUSIÓN

En la observación de los embriones de *P. cubensis* se consideraron muertos aquellos que no mostraron movimiento de rotación durante aproximadamente 30 seg (Passuni *et al.*, 2008; Matzunaga *et al.*, 2010; Núñez, 2011).

En dos puestas de huevos se encontraron diferentes estadios embrionarios, es decir, una cápsula podía tener hasta 4 estadios diferentes. En la primera se identificaron cuatro estadios; clivaje de dos

células, blástula, larva trocófora y larva veliger, mientras que en la segunda puesta se observaron tan solo dos estadios; blástula y larva veliger. No se encuentra información que explique este fenómeno en el desarrollo embrionario de *P. cubensis*, por ende, se plantean los siguientes argumentos, la puesta de huevos del caracol, pudo ocurrir en una misma cápsula desovada anteriormente en una hoja de *H. verticillata* (a manera de ejemplo), por el mismo u otro individuo perteneciente a ésta especie estudiada, ya que, la morfología de todos los estadios encontrados en este tipo de cápsulas, es igual a la de los estadios de las cápsulas que no presentan este fenómeno y son propias de la especie en mención; produciendo así una fusión de ambas cápsulas que contenían estadios diferentes. Un segundo argumento hace referencia a la reproducción del caracol; al presentar fecundación cruzada y en muy pocos casos autofecundación, probablemente un caracol copula con uno o más caracoles distintos en un lapso muy corto de tiempo y esto provoca que, antes del desove, ocurra una fusión de dos cápsulas fecundadas en distintos momentos.

La blástula en gasterópodos consiste en numerosas células, cuyas posiciones fueron establecidas por genes que activan varias vías de expresión proteica, entre ella la vía de la proteína Nodal que produce durante la embriogénesis de los espiralados y otros organismos, ocasionando de esta manera la segmentación en espiral (Shibazaki *et al.*, 2004; Kuroda *et al.*, 2009; Masanori *et al.*, 2014). Éstas blastómeras tendrán un papel fundamental en los planos de desarrollo del caracol influenciadas por la vía nodal, puesto que, la disposición de las mismas, configuran la forma y dirección de las



conchas del caracol adulto, además del desarrollo posterior del mesentoblasto (William, 1987; Masanori *et al.*, 2014). Dicho desarrollo en los espiralados, ocasiona que no existan cavidades blastocélicas evidentes, tales como en Echinodermata o Amphibia (Celoblastulas o Anfibrastulas). En gasterópodos aparece un tipo de blástula típica denominada estereoblástula. La estereoblástula del caracol es relativamente pequeña, no posee cavidad blastocélica evidente, es decir es virtual (Verdonk & van den Biggelaar, 1983; Shibazaki *et al.*, 2004; Masanori *et al.*, 2014), y sus destinos celulares ya han sido determinados por la serie “D” de las macrómeras, además la disposición y orientación de las mismas van a generar la configuración dextral o levógira de la concha del caracol (Kuroda *et al.*, 2009). Por su parte, la segmentación meroblástica da lugar a veces a una “capucha” o disco de células en el polo animal, sobre una masa de vitelo sin segmentar. Esta disposición se conoce como discoblástula (Williams, 1987; Masanori *et al.*, 2014), tal cual se logró observar en los estadios de gástrula del caracol *P. cubensis*.

La gastrulación se lleva a cabo gracias a la epibolia, por la cual las micrómeras se multiplican y cubren a las macrómeras vegetales para posteriormente cubrir el embrión en su totalidad, esto provoca una pequeña hendidura en el polo vegetal; ésta hendidura fue identificada cuando los huevos de *P. cubensis* fueron analizados al microscopio, de igual forma, ésta hendidura permite identificar con facilidad cuando se trata de una gástrula (Williams, 1987).

Las dos primeras segmentaciones del embrión, son casi meridionales y producen cuatro grandes macrómeras (marcadas A, B, C y D). En muchas especies estas cuatro blastómeras tienen diferentes tamaños (D es la más grande), cada cuarteto sucesivo de micrómeras es desplazado a la derecha o a la izquierda de una macrómera hermana creando el patrón espiral característico. Cuando no se desarrollan dichas blastómeras de manera normal y adecuada, los planos y orientación de los embriones se verán afectados, ocasionando en los caracoles adultos malformaciones e inviabilidad embrionaria (Shibazaki *et al.*, 2004; Kuroda *et al.*, 2009; Masanori *et al.*, 2014). Respecto a la literatura citada, en *P. cubensis* fue posible la identificación de las macrómeras (A, B, C y D) en

todos los clivajes observados, sin embargo, específicamente en este molusco, la blastómera D no presenta mayor tamaño respecto a las demás, por otra parte, tiene un papel fundamental en el desarrollo embrionario del caracol, puesto que es la encargada de direccionar los planos de desarrollo de caracol, en ella se expresan proteínas como la Nodal (Masanori *et al.*, 2014). Por otra parte, el proceso de espiralización fue evidente, el cual en *P. cubensis* se caracteriza por un enrollamiento hacia la izquierda.

La larva trocófora nadadora solo se observa en los arqueogasterópodos, en los pulmonados acuáticos el estado de larva trocófora tiene lugar antes de la eclosión, la cual desarrolla los esbozos de los primeros órganos (corazón, músculo retractor del pie, vísceras y concha) (Shibazaki *et al.*, 2004; Kuroda *et al.*, 2009; Masanori *et al.*, 2014). Se evidencia que el segundo cuarteto de micrómeras generalmente contribuye al manto formador de la concha, el velo, la boca y el corazón. El tercer cuarteto de macrómeras genera grandes regiones del pie, del velo, del esófago y del corazón. La célula 4d -el mesentoblasto- contribuye con el riñón larval, el corazón, los músculos elevadores y el intestino (Masanori *et al.*, 2014). En contraste con la literatura citada la larva trocófora de *P. cubensis* fue identificada antes de la eclosión presentando el músculo retractor del pie, vísceras y una concha sin desarrollar; sin embargo la visualización del corazón no se logró. La larva veliger de casi todos los prosobranquios dulceacuícolas y la mayoría de los pulmonados carecen de larva veliger de vida libre, esto quiere decir que una vez se da la eclosión sale un caracol ya completo diminuto (desarrollo directo), esta larva se caracteriza por presentar órganos desarrollados (corazón, pie, concha, tentáculos y manchas oculares). Gracias al estudio de los estadios embrionarios de *P. cubensis* se pudo identificar la larva veliger antes de la eclosión, además de ello, se logró evidenciar el latido del corazón; fenómeno característico en este estadio larval (Masanori *et al.*, 2014).

Lo más característico de la larva velígera es el órgano que posee para la natación y la alimentación, el velo, que consiste en grandes lóbulos ciliados (Shibazaki *et al.*, 2004; Kuroda *et al.*, 2009), sin embargo, en el estadio larval de veliger en *P. cubensis* no existe la presencia de

dicho velo debido a que el desarrollo de esta larva se da al interior de la cápsula del huevo. Generalmente, los gasterópodos experimentan la torsión durante la etapa de velígera, cuando la concha y la masa visceral se enrollan en relación a la cabeza y el pie (Shibazaki *et al.*, 2004; Kuroda *et al.*, 2009; Masanori *et al.*, 2014). En *P. cubensis* se confirma esta torsión.

La presencia de nematodos, anélidos y protozoos en el medio del que fueron recolectadas las cápsulas inhibieron el desarrollo de los embriones; los protozoos se encontraban en el contorno de las cápsulas ocasionando daños a la membrana mucilaginosa. Los nematodos (no identificados) y anélidos, pertenecientes a la familia Naididae, tienen una acción más perjudicial, ya que se introducen en la cápsula y matan a los embriones (Matzunaga *et al.*, 2010). Para evitar la mortandad debido a estos parásitos se cambió la muestra de agua de origen por agua potable.

### AGRADECIMIENTOS

A Sebastián García por su colaboración en la revisión y culminación de nuestro artículo. A Camilo Cortez por contribuir con imágenes claves para el objetivo de este estudio.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arthur, J.W. & Leonard, E.N. 2011. Effects of copper on *Gammarus pseudolimnaeus*, *Physa integra*, and *Campeloma decisum* in soft water. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 27: 1277-1283.
- Bernot, R.J.; Kennedy, E.E. & Lamberti, G.A. 2009. Effects of ionic liquids on the survival, movement, and feeding behavior of the freshwater snail, *Physa acuta*. Environmental Toxicology and Chemistry, 24: 1759-1765.
- Biggs A.; Hagins, W.C.; Holliday, W.G.; Kapicka, C.L.; Lundgren, L.; Mackenzie, A.H.; Rogers, W.D.; Sewer, M.B.; Zike, D. 2012. *Biología* (3<sup>ra</sup> ed). Ciudad de México, México. McGraw-hill.
- Brusca, G. & Brusca, R. 2003. *Invertebrados* (2<sup>da</sup> ed). Madrid, España. McGraw-hill.
- Duncan, C.J. 1959. The life cycle and ecology of the freshwater snail *Physa fontinalis* (L.). Journal of Animal Ecology, 28: 97-117.
- Ebbs, E.T.; Loker, E.S. & Brant, S.V. 2018. Phylogeography and genetics of the globally invasive snail *Physa acuta* Draparnaud 1805, and its potential to serve as an intermediate host to larval digenetic trematodes. BMC Evolutionary Biology, 18:103.
- Español, J. 1967. Métodos para el estudio histológico de *Physa acuta* Drap. (Pulmonado Basomatóforo). Miscelánea Zoológica, 2:13-15.
- Fernández, N.A.; Vásquez, L.R.; Zamora, H. & Velázquez, L.E. 2012. Caracterización taxonómica y limnológica de caracoles hospederos de trematodos de importancia en salud pública en el municipio de Silvia, Cauca. Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud, 44: 72-72.
- Hernández, E.M.; Carranza, D.I.; González, R.; García, A.; Marrero, O.; Águila, E.; Morales, A. & López, Y. 2017. Ecotoxicidad aguda en *Physa cubensis* P. y *Artemia salina* L. de 8 antibacterianos con riesgo ambiental. Toxicología, 34: 118-123.
- Hurtado, L. & Pérez, B. 2017. Presencia de *Physa cubensis* (Pfeiffer, 1939) (Gastropoda: Physidae) en semilleros flotantes de Tabaco. Centro agrícola, 44: 43-48.
- Iannacone, J.; Caballero, C. & Alvarino L. 2002. Crianza artificial del caracol de agua dulce *Physa venustula* Gould para estudios ecotoxicológicos de plaguicidas. Agricultura Técnica, 62: 323-324.
- Kuang, S.; Regnier, M. & Goldberg, J. 2002. Long-term culture of decapsulated gastropod embryos: a transplantation study. The Biological Bulletin, 203: 278-288.
- Kuroda, R.; Endo, B.; Abe, M. & Shimizu, M. 2009. Chiral blastomere arrangement dictates zygotic left-right asymmetry pathway in snails. Nature, 462: 790-794.
- Lowe, R. & Hunter, R. 2002. Effect of grazing by *Physa integra* on periphyton community structure. Freshwater science, 7: 29-36.
- Lydeard, C.; Campbell, D. & Golz, M. 2016. *Physa acuta* draparnaud, 1805 should be treated as a native of North America, not Europe.

- Malacología, 59: 347–350.
- Maqboul, A.; Aoujdad, R.; Fadli, M. & Fekhaoui, M. 2014. Population dynamics of *Physa acuta* (Mollusca: Pulmonata) in the lakes of Rif mountains (Northern Morocco, Ouergha watershed). Journal of Entomology and Zoology Studies, 2: 240-245.
- Masanori, A.; Hiromi, T. & Reiko, K. 2014. Spiral cleavages determine the left-right body plan by regulating Nodal pathway in monomorphic gastropods, *Physa acuta*. International Journal Development Biology, 58: 513-520.
- Matzunaga, C.; Passuni, G.; Pino, J. & Iannacone, J. 2010. Desarrollo embrionario de *Helisoma peruvianum* (Broderip 1832) (Pulmonata: Planorbidae) bajo condiciones de laboratorio. The Biologist (Lima), 8: 35-42.
- Moreno, V.; García, J.F. & Villalba, J.C. 2016. Descripción general de los humedales de Bogotá, D.C. Sociedad geográfica de Colombia, consultado el 2 de enero de 2019, <<http://sogeocol.edu.co/documentos/humed.pdf>>
- Núñez, V. 2011. Fecundity and survival advantages of an exotic Gastropod compared to a native Species. American Malacological Bulletin, 29: 95-103.
- Paraense, W.L. & Pointier, J.P. 2003. *Physa acuta* Draparnaud, 1805 (Gastropoda: Physidae): a study of topotypic specimens. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98: 513-517.
- Perera, G.; Yong, M. & Jaume, M. 1981. Moluscos fluviales de Santa Clara y su importancia médica. Revista cubana de medicina tropical, 33: 110-113.
- Passuni, G.; López, R.; Pino, J. & Iannacone, J. 2008. Toxicidad aguda del mercurio en embriones de *Helisoma trivolvis* (Say, 1817) (Mollusca: Planorbidae). The Biologist (Lima), 6:48-53.
- Saha, C.; Parveen, S.; Chakraborty, J.; Pramanik, S. & Aditya, G. 2017. Life table estimates of the invasive snail *Physa acuta* Draparnaud, 1805, occurring in India. Ekológia (Bratislava), 36: 60-68.
- Sarmiento, L.W.; Vázquez, A.A.; Quesada, M.; Sánchez, J.; Jiménez, Y.H.; Fuentes, J. & Ramos, R. 2010. Estudios ecológicos en moluscos de importancia médico-veterinaria en la granja de desarrollo La Coca. Revista Cubana de Medicina Tropical, 62: 18-23.
- Shibazaki, Y.; Shimizu, M. & Kuroda, R. 2004. Body handedness is directed by genetically determined cytoskeletal dynamics in the early embryo. Current Biology, 14: 1462-1467.
- Taylor, D.W. 2003. Introduction to Physidae (Gastropoda:Hygrophila); biogeography, classification, morphology. Revista de biología tropical, 51:1-287.
- Vázquez, A.A. & Gutiérrez, A. 2007. Ecología de moluscos fluviales de importancia médica y veterinaria en 3 localidades de La Habana. Revista cubana de medicina tropical, 59:149-153.
- Verdonk, N.H. & Van den Biggelaar, J.A.M. 1983. Early development and the formation of the germ layers. In Verdonk, N.H.; Van den Biggelaar, J.A.M. & Tompa, A.S. (eds.), *The Mollusca, Development*, Vol. 3, Academic Press, New York, pp. 91–121.
- Williams, J.M. 1887. A dextral *Physa fontinalis*. Journal of Conchology, 5: 220.

Received October 31, 2018.

Accepted March 28, 2019.