

HISTOLOGÍA DE OJOS COMPUESTOS DE *Sympetrum illotum* (Hages, 1861) (ANISOPTERA: LIBELLULIDAE)

Jaret Irais Martínez-López², María del Pilar Villeda-Callejas²✉, José Ángel Lara-Vázquez¹, Daleth Guedea-Fernandez² y Osvaldo Cervantes-Zamudio²

¹Laboratorio de Zoología. FES Iztacala UNAM. Av. de los Barrios #1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México. México C.P. 54090.

²Laboratorio de Microscopía. FES Iztacala UNAM. Av. de los Barrios #1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México. México C.P. 54090.

✉ Autor de correspondencia: mapili_villeda@yahoo.com.mx

RESUMEN. Los odonatos son grandes depredadores aeroterrestres, su visión presenta una alta resolución espacial gracias a sus ojos compuestos que se encuentran muy desarrollados, formados por aproximadamente 30,000 omatidios; estos fotorreceptores son capaces de ajustar los cambios en la escena visual. El objetivo del presente trabajo fue describir a nivel histológico los ojos compuestos de *Sympetrum illotum*. Se realizó técnica histológica tiñendo con hematoxilina-eosina y argéntica; para su observación se utilizó microscopio de contraste de fases con filtros verde y azul. Histológicamente se encontró que los ojos compuestos presentan una cornea amplia, los conos cristalinos son de tamaño y arreglo homogéneo, membrana basal ancha y bajo ésta se observan tráqueas de diferente diámetro. El uso del filtro azul en microscopía de contraste de fases resalta mejor a la tinción con hematoxilina-eosina

Palabras clave: Microscopía de contraste de fases, tinción argéntica, libélula

Histology of the compound eyes of *Sympetrum illotum* (Hages, 1861) (Anisoptera: Libellulidae)

ABSTRACT. The odonates are great air-ground predators, their vision presents a high spatial resolution dew to their compound eyes which are highly developed, formed by approximately 30,000 ommatidia; these photoreceptors are able to adjust the changes in the visual scene. The objective of the present work was to describe the compound eyes of *Sympetrum illotum* at histological level. Histological technique was performed staining with hematoxylin-eosin and silver; for its observation phase contrast microscope was used with green and blue filters. Histologically it was found that the compound eyes have a wide cornea, the crystalline cones are of similar size and homogeneous arrangement, broad basal membrane and under this one tracheas of different diameter are observed. The use of the blue filter in phase contrast microscopy highlights the hematoxylin-eosin stain better.

Keywords: Phase contrast microscopy, silver stain, dragonfly.

INTRODUCCIÓN

Los odonatos exhiben adaptaciones morfológicas conspicuas; siendo las de mayor importancia las relacionadas con el vuelo y la visión.

Los ojos compuestos en estos insectos se encuentran muy desarrollados, presentan aproximadamente 30,000 omatidios; se debe en gran medida a que son grandes depredadores aeroterrestres y requieren de una alta resolución espacial gracias a que sus fotorreceptores son capaces de ajustar los cambios en la escena visual.

Ninomiya, *et al.* (1969) con ayuda de microscopía electrónica examinaron los ojos compuestos de *Ischnura senegalensis* y *Cersion calomorum* encontrando que las omatidios están compuestas por ocho células de la retina.

Martínez (2002), realiza la descripción de diferentes técnicas para estudiar la micro anatomía y la morfometría en insectos. En el apartado de técnicas histológicas detalla cuales son los mejores

fijadores para el tejido de los insectos, también indica el proceso de inclusión en parafina y realiza la técnica de rutina de hematoxilina-eosina para la tinción de los cortes de los ojos compuestos.

El presente trabajo tuvo como objetivo describir a nivel histológico, los ojos compuestos en *Sympetrum illotum* empleando diferentes filtros en la observación con el microscopio de contraste de fases.

MATERIALES Y MÉTODO

Los organismos se recolectaron en diferentes cuerpos de agua lenticos de la Sierra de Guadalupe, Ecatepec, Estado de México; se separaron en dos grupos uno para realizar la determinación taxonómica con la ayuda de claves especializadas (Needham y Westfall, 1954; Usinger, 1956), fijándose en acetona pura y posteriormente se introdujeron en bolsas de papel glassine debidamente etiquetadas; el segundo grupo (cinco ejemplares) se fijó en una solución de Bouin, mediante inyección en el tórax e inmersión durante un día para continuar con la técnica histológica. El material se trasladó al Laboratorio de Microscopía de la FES-Iztacala, UNAM.

Las cabezas de los odonatos fueron desprendidas y se les realizó un lavado con agua corriente por goteo, permitiendo el constante recambio del agua hasta que se observó la ausencia del colorante amarillo producido por el uso de la solución de Bouin, posteriormente se introdujeron en alcohol al 70% durante 48 horas con recambios para eliminar el fijador. Se deshidrato el tejido empleando alcoholes graduales hasta llegar al absoluto, para finalizar se dejaron en alcohol amílico durante 24 horas. Posteriormente todas las piezas se incluyeron en paraplast; realizándose cortes histológicos seriados con un espesor de 7 a 10 μm en un micrótomos American Optical, modelo 820.

Con relación a la tinción se eligieron dos técnicas de acuerdo al método de Luna, (1968): la técnica argéntica que se implementó mediante goteo con solución acuosa de nitrato de plata al 2% durante 45 minutos; la segunda técnica fue la de hematoxilina-eosina siguiendo el método de Luna, (1968). Finalmente, los cortes fueron montados con Entellan para su observación empleando un microscopio óptico Motic B Mod. BI-223 con los objetivos 4X, 10X y 40X. Para la técnica de microscopía de contraste de fase se utilizó un microscopio de epifluorescencia y contraste de fases LEICA con los objetivos 10X, 20X y 40X (Fig. 1). Las imágenes se fotografiaron con una cámara Moticam 2000 usando el programa Motic (para XP), cámaras digitales Nikon Coolpix S4400 y Canon PowerShot Elph 190 IS; finalmente se realizó su interpretación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tinción con hematoxilina y eosina. *Sympetrum illotum* (Fig. 1A). Corte longitudinal y oblicuo en donde se observa a la córnea teñida en un tono rosa, los conos cristalinos manteniendo el mismo tamaño y un acomodo homogéneo. La retina abarca la mayor parte del corte y se aprecia claramente la transición entre una sección longitudinal y otra oblicua (Fig. 1B y C); debido a este acomodo la membrana basal (fenestrada) se aprecia más gruesa, manteniendo una coloración oscura y presenta un número de tráqueas de tamaño variable comenzando de pequeñas a más grandes; posteriormente, se ve el nervio óptico completo y su unión al ganglio nervioso el cual se encuentra ligeramente desprendido. En corte longitudinal se aprecia claramente un acomodo homogéneo y de un tamaño igual para los conos cristalinos; así mismo se nota la presencia de las células corneógenas (parte superior) y las células formadoras del cono cristalino (parte inferior) a cada lado de los mismos respectivamente (Fig. 1D).

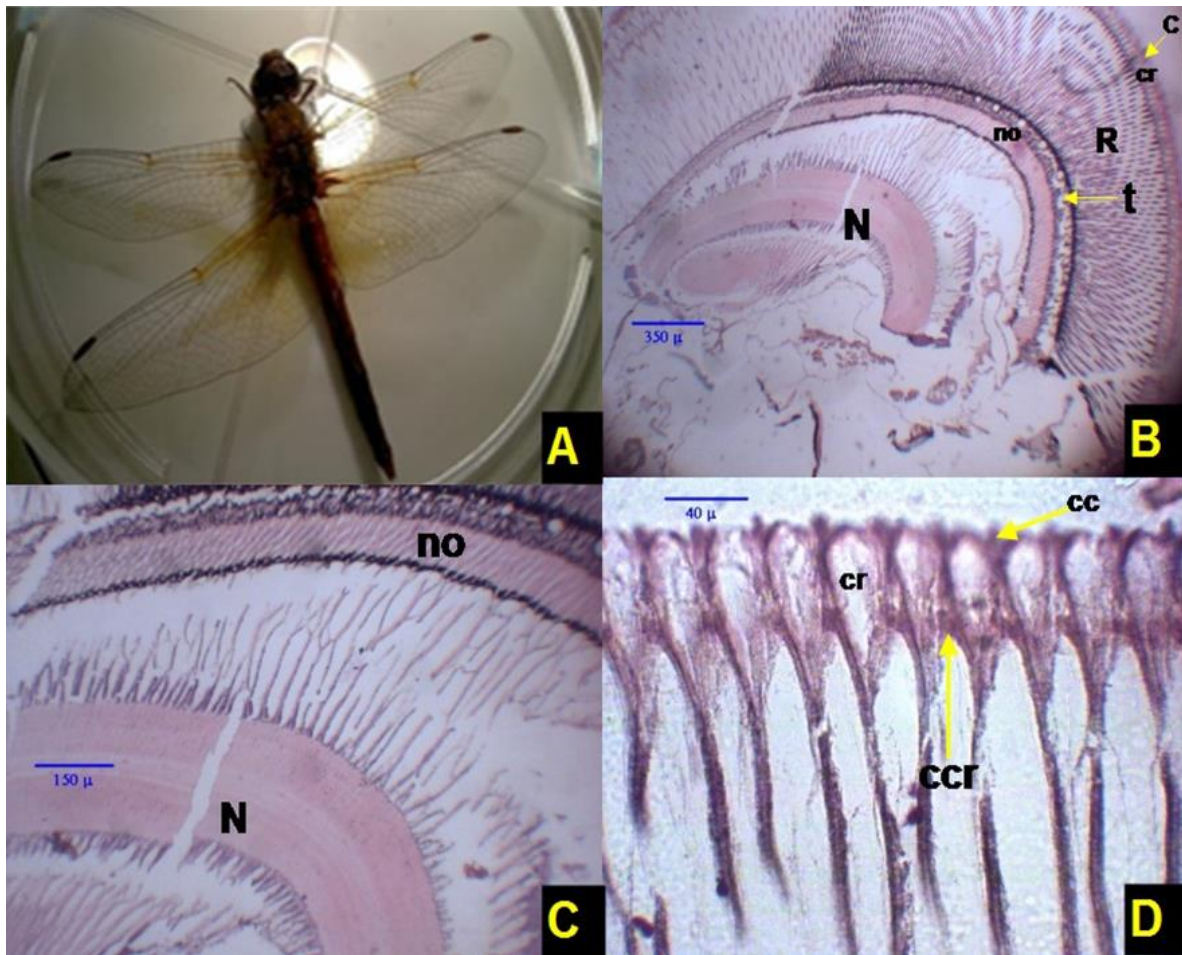


Figura 1. Estructura del ojo compuesto de un Anisoptero adulto en tinción de H-E. A: *Sympetrum illotum*. B-D: Corte histológico longitudinal donde se muestra del exterior al interior: c: córnea, cc: células corneógenas, cr: cono cristalino (47.9 μm), ccr: células formadoras del cono cristalino, R: Rábdoma (572.4 μm), no: nervio óptico (207.8 μm), t: tráqueas de la membrana basal, N: ganglio nervioso. (B: Imagen observada a 10X, C y D: Imagen observada a 40x)

Tinción con Nitrato de Plata. En corte longitudinal y oblicuo la córnea se muestra completa en tono claro, el cono cristalino acomodado homogéneamente y manteniendo el mismo tamaño, el rábdoma y las células de la retina ocupan un gran espacio en el corte, en esta sección se observa el cambio en la disposición de longitudinal a oblicuo; posteriormente se aprecia la membrana basal fenestrada con gran cantidad de tráqueas de tamaño variable iniciando de muy pequeñas a más grandes favorecido por el acomodo del corte; el nervio óptico se encuentra completo y se distinguen dos zonas muy ennegrecidas que corresponden a la unión con los rábdomeros con el ganglio nervioso respectivamente (Fig. 2A). Corte longitudinal a oblicuo encontrando del exterior al interior la córnea una delgada capa de tono más clara, el acomodo de los conos cristalinos perfectamente en empalizada y de tamaño homogéneo; el rábdoma y las células de la retina mostrando claramente la unión con la membrana basal fenestrada mediante quiasmas con una capa gruesa y con tráqueas de tamaño variable y finalmente el nervio óptico (Fig. 2B). Corte transversal en donde se observan varias unidades células de la retina rodeando al rábdoma diferenciado por presentar un tono más claro, en este caso se encuentra rodeado por 6 células de la retina (Fig. 2C),

Ninomiya, et al, 1969 reportan para *Ishnura senegalensis* y *Cersion calomorum* la presencia de 8 células que conforman la retina.

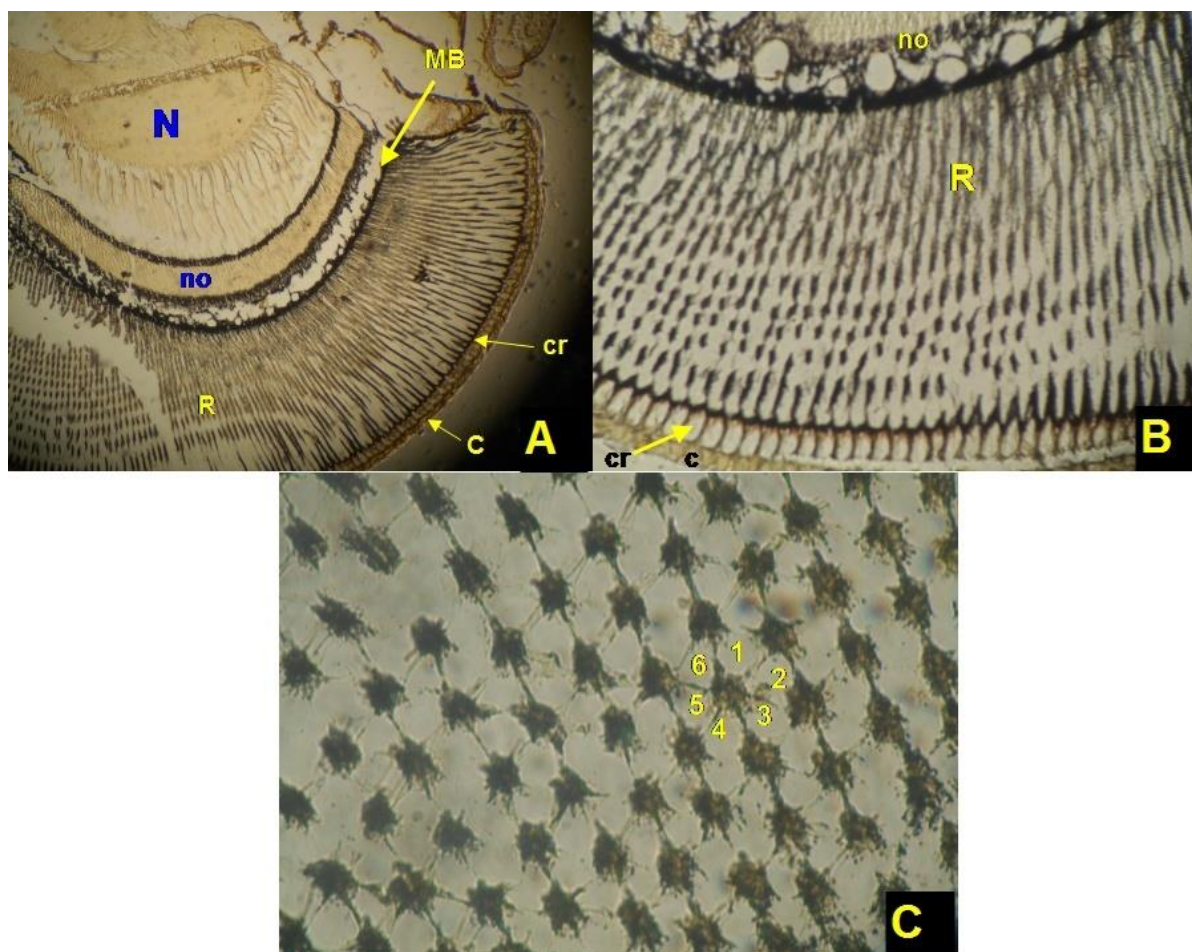


Figura 2. Cortes histológicos teñidos con nitrato de plata de *S. illotum*. A-B: Corte longitudinal en donde se observa del exterior al interior: c: córnea, cr: cono cristalino, R: rábdom, MB: membrana basal fenestrada, no: nervio óptico, N: ganglio nervioso. C: corte transversal se observa varias unidades de las rosetas de las células de la retina rodeando al rábdom, se enumeraron del 1 al 6. (A: Imagen observada a 4X; B: Imagen observada a 10X y C: Imagen observada a 40X).

Con la tinción hematoxilina y eosina utilizando microscopio de contraste de fases y filtro azul, en corte histológico longitudinal la córnea se presenta en un tono traslucido brillante, a los conos cristalinos con una forma más o menos redondeada los cuales en la parte superior se aprecian las células corneógenas teñidas en tono rosa, estas no se observaron con microscopio óptico; en la parte posterior se encuentran las células formadoras del cono cristalino en tono rojizo y el rhabdoma que ocupa gran parte de la imagen (Fig. 3A). Con este filtro también se distingue que la membrana basal fenestrada está teñida en un tono más oscuro, aunque el nervio óptico se encuentra ligeramente desprendido se distingue que las células que se unen a la membrana están teñidas en tono morado y el resto de las células nerviosas se ven en un tono traslucido brillante (Fig. 3B). Corte histológico transversal en el que se aprecia a los conos cristalinos en tonos traslucidos con una forma circular y con dos capas, el resto del corte lo ocupa el rhabdoma y las células de la retina,

las cuales se encuentran señalizadas del 1 al 6, debido a que forman una estructura más o menos hexagonal (Fig. 3D).

Con esta técnica observada en microscopía de contraste de fases y con el uso del filtro verde los rabdomeros no están muy bien definidos, la membrana basal oscura y una de sus tráqueas grande y oval (Fig. 3C).

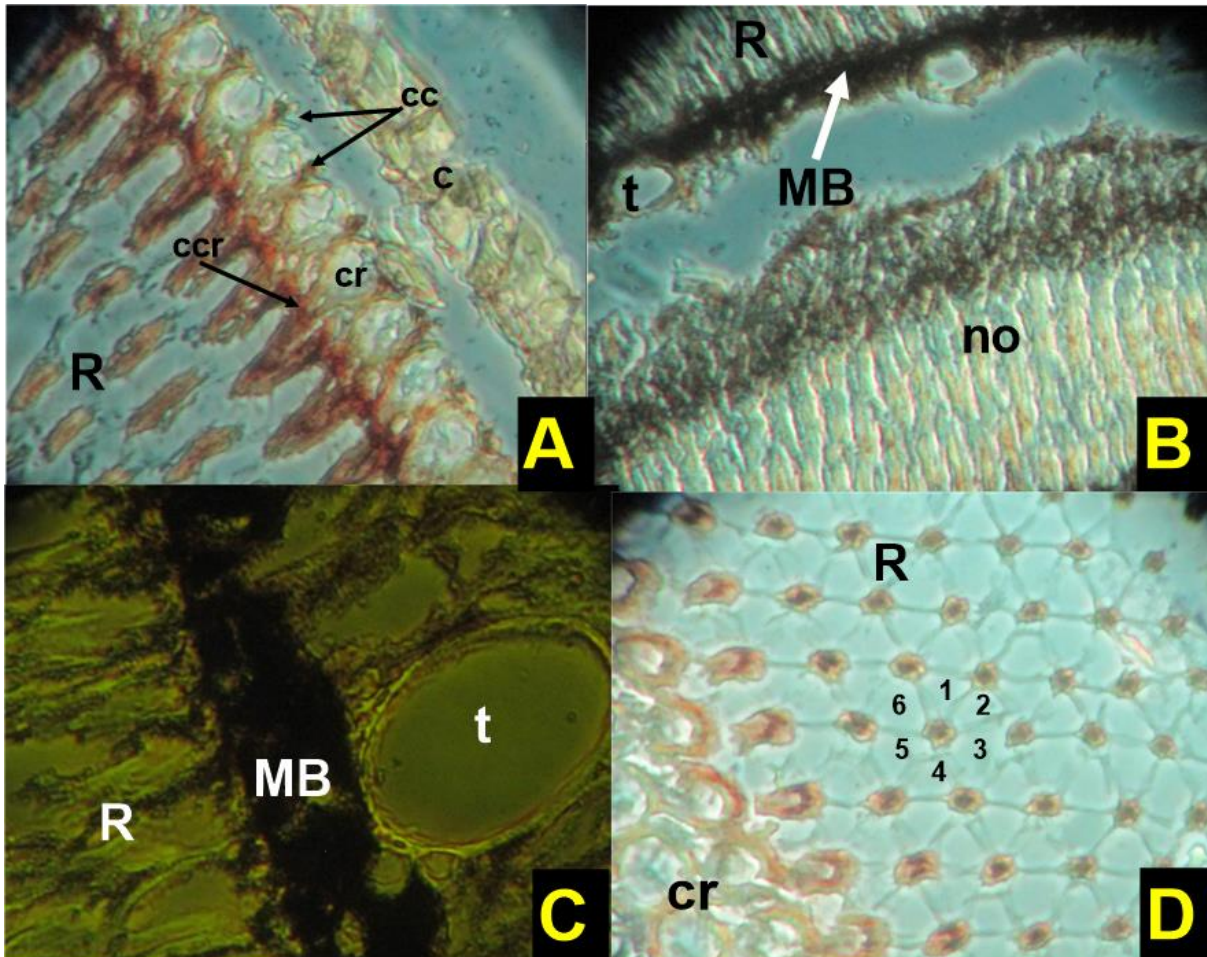


Figura 3. Estructura del aparato visual de *S. illotum* tinción H-E en microscopía de contraste de fase. A y B: Cortes histológicos longitudinales utilizando filtro azul en los que se observa: c: córnea, cc: células corneógenas, cr: cono cristalino, ccr: células formadoras del cono cristalino, R: rábdom, MB: membrana basal, t: tráquea, no: nervio óptico. C: Corte longitudinal utilizando filtro verde en el que se muestra: R: rábdom, MB: membrana basal, t: tráquea. D: Corte transversal utilizando filtro azul en el que se aprecia a los conos cristalinos y las células de la retina dispuestas en forma de “roseta enumeradas del 1 al 6. (A, B y D: Imágenes observadas a 20X; C: Imagen observada a 40X).

Las observaciones realizadas con Nitrato de Plata en microscopía de contraste de fases y filtro azul muestran a la córnea bien definida la cual se percibe con tonos traslucidos y brillantes. Posteriormente se ven los conos cristalinos, de tamaño uniforme, manteniendo esos tonos brillantes y un acomodo homogéneo; el área del rábdoma se distingue por ese color negro que contrasta con los demás colores (Fig. 4A y D). Corte diagonal en el que se aprecia la región del rábdoma fuertemente teñida en un tono negro así como la membrana basal (fenestrada); en las tráqueas en la región en contacto con la membrana se observan fuertemente teñidas pero en la parte más distal se ve un tono dorado brillante, algunas partes del nervio óptico se encuentran ligeramente

desprendidas pero en ambos extremos se aprecia una tinción fuerte con el nitrato de plata y toda la zona del centro en tonos traslucidos muy brillantes (Fig. 4B). Corte oblicuo en el que se distingue la parte final de los conos cristalinos y del rábdoma en forma estrellada (Fig. 4C).

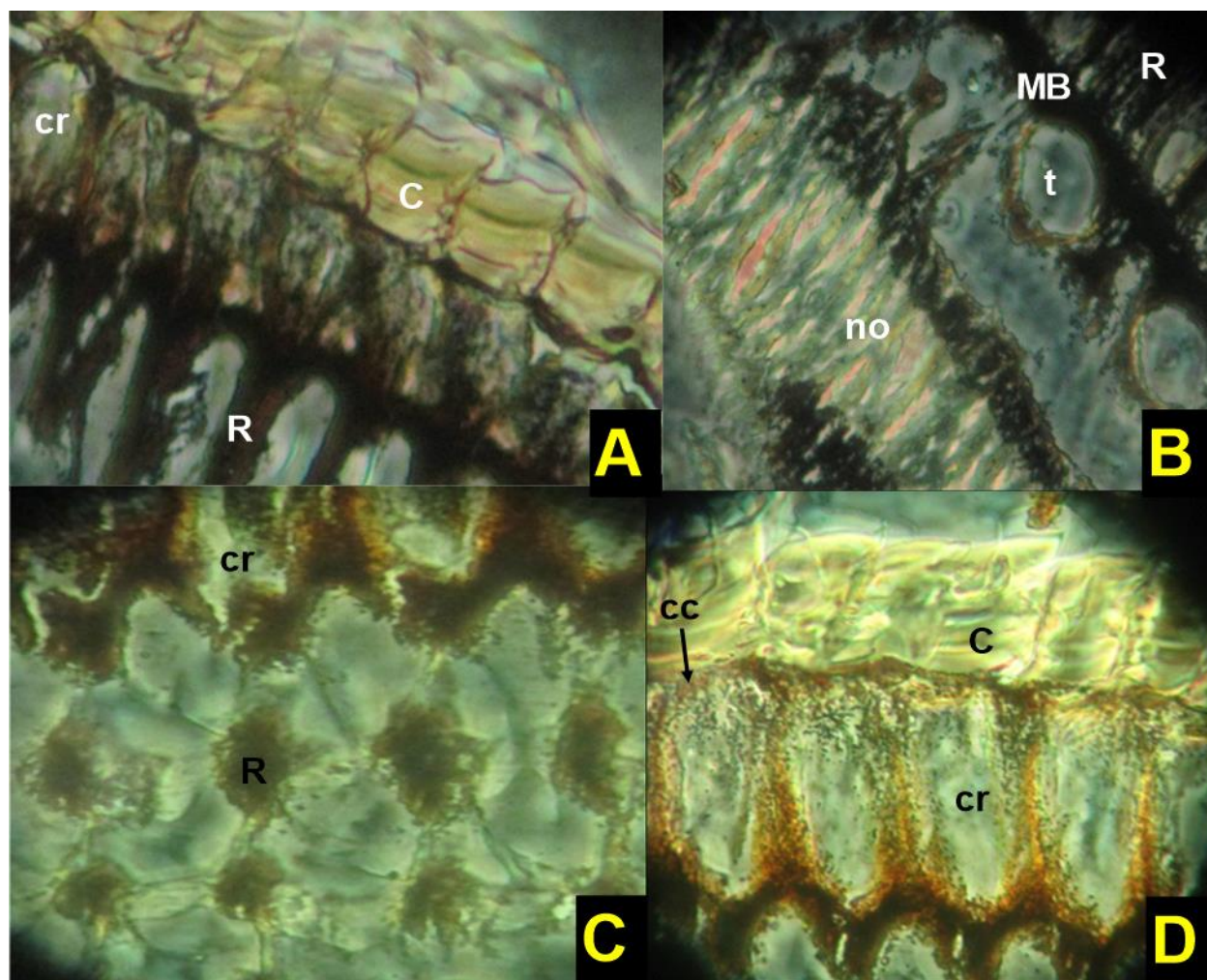


Figura 4. Estructura del aparato visual de *S. illotum* en tinción argéntica observada en microscopia de contraste de fases. A-D: Cortes histológicos longitudinales con filtro azul distinguiendo claramente: c: córnea, cc: células corneógenas, cr: cono cristalino, R: rábdom, MB: membrana basal (fenestrada), t: tráqueas, no: nervio óptico. (A-D: Imágenes observadas a 40X).

El conocimiento y la descripción de las estructuras que participan en la visión de los odonatos es importante, pues esto permite inferir el comportamiento alimentario de estos organismos; Corbet, 1999, indica que la distribución de los omatidios y el ángulo interomatidial repercute en la visión de los objetos en movimiento, y esto en sus hábitos de forrajeo en pleno vuelo.

CONCLUSIÓN

Las células de la retina de *Sympetrum illotum* se apreciaron en arreglos de “roseta”, conformada por seis células.

La membrana basal fenestrada se observó con gran cantidad de tráqueas de tamaño variable iniciando de muy pequeñas a más grandes.

El empleo de hematoxilina-eosina y filtro azul en las observaciones realizadas con microscopio de contraste de fases resultó ser mejor.

La tinción argéntica y el filtro azul, con microscopio de contraste de fases también resaltó más los omatidios.

Para distinguir las estructuras celulares del ojo compuesto de *S. illotum* no es necesario emplear filtros si se tiñe con técnica argéntica.

LITERATURA CITADA

- Corbet, P. S. 1999. *Dragonflies, Behavior and Ecology of Odonata*. Cornell University Press. New York. USA: 829 pp
- Martínez, M. I. 2002. Técnicas básicas de anatomía microscópica y de morfometría para estudiar a los insectos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. Aragón, España. 30: 187-195
- Ninomiya, N., Tominaga, Y. y Kuwabara, M. 1969. The fine structure of the compound eye of a Dam-selfly. *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*, Vienna, Austria. 98: 17-32
- Needham, J. y Westfall, M. J. Jr. 1954. *A manual of the dragonflies of North America (Anisoptera) including the Greater Antilles and the provinces of the Mexican border*. Berkeley: University of California Press. Los Angeles. USA. 615 pp.
- Usinger, R. 1956. *Aquatic Insects of California: with keys to North American genera and California species*. University of California Press. Los Angeles. USA: 508 pp.
- Luna, L. G. 1968. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. Mc Graw Hill. State United of America 32-46 p.