

Embriogénesis y desarrollo larvario intra-capsular de *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853)
(Prosobranchia, Muricidae) en condiciones de laboratorio

Embryonic and intracapsular larval development of *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853)
(Prosobranchia, Muricidae) under laboratory conditions

Ludwig C.A. Naegel¹
Ma. del Carmen Gómez del Prado-Rosas²

¹ Departamento de Biología Experimental
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN)
Apartado postal 592
La Paz, Baja California Sur, CP 23000, México
E-mail: lnaegel@cibnor.mx

² Departamento de Biología Marina
Universidad Autónoma de Baja California Sur
Apartado postal 19-B
La Paz, Baja California Sur, México
E-mail: mcgomez@uabcs.mx

Recibido en abril de 2003; aceptado en diciembre de 2003

Resumen

Se estudió el desarrollo de embriones del muricido marino *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853) hasta su eclosión. Cada hembra depositó alrededor de 150 cápsulas con huevos en un periodo de desove de 10 semanas. Los huevos tuvieron segmentación espiral seguida de una gastrulación por epibolia con la formación de larvas trocóforas no típicas, y veliger. Los embriones se alimentaron del vitelo contenido en el huevo. No se observó la presencia de huevos nutritivos. En 13% de las cápsulas, se presentaron diferentes estadios de desarrollo embrionario o larval en una misma cápsula. El desarrollo intra-capsular terminó a una temperatura de 21–23°C en un periodo de 5 a 8 semanas después de la puesta de la cápsula con la eclosión de larvas veliger planctotróficas.

Palabras clave: gasterópodos, muricidos, *Plicopurpura pansa*, embriogénesis, desarrollo intra-capsular.

Abstract

The embryonic development of the marine muricid *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853) until hatching is described. Each female spawned about 150 egg capsules in a 10-week period. The egg showed spiral segmentation, followed by gastrulation through epiboly, the formation of a non-typical trochophore and veliger larva. The embryos fed on the egg yolk. Nurse eggs were not observed. In 13% of the egg capsules, different embryonic or larval stages of development were found in the same capsule. At 21–23°C the intracapsular development was completed with the hatching of planktotrophic veliger larvae after a period of 5 to 8 weeks.

Key words: gastropods, muricids, *Plicopurpura pansa*, embryogenesis, intracapsular development.

Introducción

El caracol marino púrpura *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853), de acuerdo con Wellington y Kuris (1983) y Kool (1993) sinónimo de *Purpura pansa* (Gould, 1853), vive en playas rocosas intermareales expuestas a alto impacto de oleaje marino y en el Océano Pacífico se distribuye desde la costa noroeste de México (Baja California Sur) (Clench, 1947; Keen, 1971) hasta el norte de Perú (Peña, 1970; Paredes *et al.*, 1999).

Introduction

The marine purple snail *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853), which according to Wellington and Kuris (1983) and Kool (1993) is synonymous with *Purpura pansa* (Gould, 1853), inhabits rocky intertidal beaches exposed to strong wave action. It is distributed in the Pacific Ocean from the northwestern Mexican coast of Baja California Sur (Clench, 1947; Keen, 1971) to northern Peru (Peña, 1970; Paredes *et al.*, 1999).

Desde la época prehispánica, la tinta de *P. pansa* ha sido explotada por los indígenas para teñir sus telas y vestidos tradicionales; sin embargo, esta tradición se ha mantenido sólo en algunas regiones del Pacífico mexicano (en los estados de Oaxaca y Michoacán) y en la comunidad de los Borucas en Costa Rica (Turok, 1999). Actualmente, en la búsqueda de colorantes naturales, la explotación comercial del caracol púrpura por su tinte púrpura tiriano ha alcanzado niveles tales que su supervivencia se ha visto amenazada, por lo que el gobierno mexicano (Anónimo, 1988, 1994) declaró a *P. pansa* como una especie bajo protección especial.

A pesar de la importancia de *P. pansa* como recurso natural potencial para tinte púrpura tiriano y de su nivel actual de recuperación, persisten dudas acerca de aspectos básicos de su biología: (a) ¿A qué edad y talla alcanzan estos organismos su madurez sexual y su primera reproducción en la naturaleza? (b) ¿En qué estación o época del año ocurre la reproducción de esta especie y la puesta de sus cápsulas en las costas de Baja California Sur? (c) ¿Cuántos periodos de puesta de cápsulas ocurren en un año? (d) ¿Cuál es su tipo de desarrollo embrionario, cuánto tiempo tardan en eclosionar y qué tamaño alcanzan las larvas?

Esta información es indispensable para desarrollar técnicas que ayuden a la recuperación de las poblaciones naturales, haciendo posible su restablecimiento como especies comerciales, ayudando también a amortiguar el efecto de la sobreexplotación. Hasta ahora, poco se conoce de la embriogénesis y desarrollo larvario intra-capsular de esta especie protegida, debido a los problemas que se presentan para obtener, en condiciones naturales, cápsulas con huevos de una determinada edad. Sin embargo, existen observaciones preliminares presentadas en una reunión nacional (Acevedo-García *et al.*, 1993), y un trabajo de Acevedo-García (1995). En este estudio se presentan resultados preliminares sobre la embriogénesis y desarrollo larvario intra-capsular de *P. pansa*, a partir de cápsulas con huevos obtenidas en condiciones de laboratorio.

Material y métodos

Se cultivaron adultos de *P. pansa* de ambos sexos en 10 garrafones de vidrio sin fondo invertidos y cada uno con 10 L de agua de mar (con 28–36‰ de salinidad, intercambiada a diario con agua a temperatura ambiente de 20–28°C, con una temperatura en el laboratorio de 20–23°C y 12 horas de luz/obscuridad). Se mantuvieron 30 animales en cada frasco, alimentándolos diariamente a saciedad con cantidades ilimitadas de calamar, mejillones o corazón de res. Las cápsulas estudiadas fueron puestas de abril a julio de 2001. La fecha de la puesta se marcó en la pared externa de los frascos. Para los estudios morfológicos las cápsulas se sacaron periódicamente y se fijaron en frascos viales con formaldehído al 4% neutralizado. Las cápsulas fijadas se abrieron, y los huevos, embriones y larvas fueron colocados en canastillas de vidrio con malla de plancton de 50 µm. Se tiñeron con carmin acético, se aclararon

Since prehispanic times, the purple dye produced by this snail has been used by indigenous people to dye fabrics and traditional clothing. Today this tradition is only maintained in some regions of the Mexican Pacific (in the states of Oaxaca and Michoacán) and among the Borucas community in Costa Rica (Turok, 1999). In the search for natural colouring materials, however, the commercial exploitation of *P. pansa* to obtain the purple Tyrian dye reached such levels that the Mexican government (Anónimo, 1988, 1994) considered this species sufficiently threatened to warrant special protection.

Despite the importance of *P. pansa* as a natural potential resource of the Tyrian dye and the current state of its recovery, answers are still pending to questions on basic aspects of its biology: (a) At what age and size does this species attain sexual maturity and first reproduction in the natural environment? (b) During what season or time of year does this species reproduce and lay its egg capsules on the coasts of Baja California Sur? (c) Are the capsules deposited only once or several times a year? (d) What type of embryonic development does it present, when does hatching occur, and what size is attained by the larvae?

This information is necessary to develop measures for the restoration and sustainable exploitation of the natural populations. To date, because of the difficulties involved in obtaining egg capsules of a specific age from the natural environment, little is known of the embryogenesis and intracapsular larval development of this protected species (Acevedo-García *et al.*, 1993; Acevedo-García, 1995). Preliminary results on the embryogenesis and intracapsular larval development of *P. pansa* egg capsules under laboratory conditions are presented in this study.

Material and methods

Plicopurpura pansa adults of both sexes were cultured (12-h light/dark regimen) in 10 glass bottles, turned upside down and with the bottom cut off. Each bottle contained 10 L of seawater (salinity: 28–36‰), which was exchanged daily (temperature of the water stored outside and used in the exchange: 20–28°C; water temperature in the laboratory: 20–23°C). Thirty animals were kept in each bottle and fed daily with unlimited amounts of squid, mussel or cow heart. The egg capsules studied were deposited from April to July 2001, and the date was recorded on the external walls of the bottles.

For the morphological studies, egg capsules were removed periodically and fixed in flasks with 4% neutralized formaldehyde. The fixed capsules were opened, and the eggs, embryos and larvae were placed in glass containers with 50-µm plankton mesh. They were stained with acetic carmin, cleared in methyl salicylate, and mounted with synthetic resin on permanent preparations, according to the methodology proposed by Schmidt (1988). A Zeiss-Axiomate compound microscope was used to describe the different structures. The images were digitalized with the PCITV98 program and edited with Corel PhotoPaint v. 9. In each stage of development, measurements

en salicilato de metilo y se montaron con resina sintética en preparaciones permanentes, de acuerdo con la metodología propuesta por Schmidt (1988). La descripción de las diferentes estructuras se realizó con el microscopio compuesto Zeiss-Axiomate. Las imágenes se digitalizaron con el programa PCITV98 y se editaron con COREL Photopaint v. 9. En cada estadio de desarrollo se midieron, con un ocular micrométrico, el largo (distancia del polo animal al polo vegetal) y ancho (diámetro) de 25 embriones o larvas, pero solamente los de 19 organismos en fase de segmentación. Se registraron (en micras) talla media, rango y desviación estándar para cada etapa de desarrollo. En las figuras la escala corresponde a las tallas medias.

Resultados

Las conchas de los gastrópodos murícidos carecen de dimorfismo sexual por lo que, para la determinación del sexo, es necesario revisar las partes blandas buscando la presencia o ausencia de pene, teniendo la precaución de no dañar a los animales. Las hembras depositaron en las paredes de los frascos y bajo el nivel del agua de 1 a 20 cápsulas diarias. Los caracoles tendieron a unir sus cápsulas formando una gran masa comunal, lo cual dificultó distinguir cuál hembra depositó determinadas cápsulas. Después de la oviposición, las cápsulas mostraron cambios de color que están relacionados con el grado de desarrollo de los embriones. Inicialmente las cápsulas son blanquecinas y, en dos días, cambian a su color a blanco-cremoso. Después de dos a tres semanas de desarrollo, presentan un color café claro que luego se oscurece. Ocasionalmente algunas cápsulas tomaron un color púrpura y éstas contenían embriones muertos. Conforme fueron pasando los días, las características de cada etapa de desarrollo del caracol púrpura fueron las siguientes:

Día 0: Ovocitos/huevos. Huevos telolécitos. No se observa núcleo debido a la cantidad de gránulos de vitelo que ocupan la totalidad del volumen celular (fig. 1). Diámetro medio: 149.8 μm (DE $\pm$ 6.7, rango: 137–159 μm).

Días 3–7: Segmentación. Segmentación espiral con un macrómero vegetativo lleno de vitelo y más de 20 micrómeros de tamaño variable con núcleos evidentes en el polo animal, los mayores adyacentes al macrómero y los más pequeños distales (fig. 2a, b). Largo: 198 μm (DE $\pm$ 88.5, rango: 166–282 μm). Ancho: 172 μm (DE $\pm$ 58.6, rango: 128–343 μm).

Días 8–12: Gastrulación. En embriones con gastrulación inicial, los micrómeros periféricos se aplanan para iniciar su desplazamiento mediante epibolia (fig. 3a, b). En aquellos donde ésta ha terminado, se observa el blastoporo (fig. 3c, d). Largo: 198 μm (DE $\pm$ 88.5, rango: 166–282 μm). Ancho: 172 μm (DE $\pm$ 58.6, rango: 128–343 μm). Posteriormente inicia la formación de los llamados riñones larvarios que, de acuerdo con Fretter and Graham (1994), son proyecciones del ectodermo de una o varias células en las que se acumulan

were taken with a micrometric eyepiece of the length (distance from the animal pole to the vegetal pole) and width (diameter) of 25 embryos and larvae, but only 19 in segmentation phase. Mean sizes, range and standard deviation were recorded (in microns) for each stage. In the figures, the scale corresponds to the mean sizes.

Results

The shells of muricid gastropods lack sexual dimorphism, so the soft parts have to be analyzed to determine the sex. With a bit of experience, the presence or absence of a penis was ascertained without harming the animals. Females deposited 1–20 capsules daily on the glass walls and under water level. The snails tended to group their egg capsules, forming one large mass, making it difficult to distinguish which female deposited specific capsules. After oviposition, the colour of the egg capsules changed according to the degree of embryonic development: initially, they were off-white, changing to a creamy white in two days, and after two to three weeks, they were light brown at first and then dark brown. Occasionally, some capsules turned purple and they contained dead embryos. The characteristics of each stage of development of the purple snail are given in the following description.

Day 0: Oocytes/eggs. Nucleus not observed because of the yolk granules that occupy all the cellular volume (fig. 1). Mean diameter: 149.8 μm (SD $\pm$ 6.7, range: 137–159 μm).

Days 3–7: Segmentation. Spiral segmentation with a vegetative macromere, full of vitellus, and more than 20 micromeres of variable size with an evident nucleus in the animal pole, the largest micromeres next to the macromere and the smallest

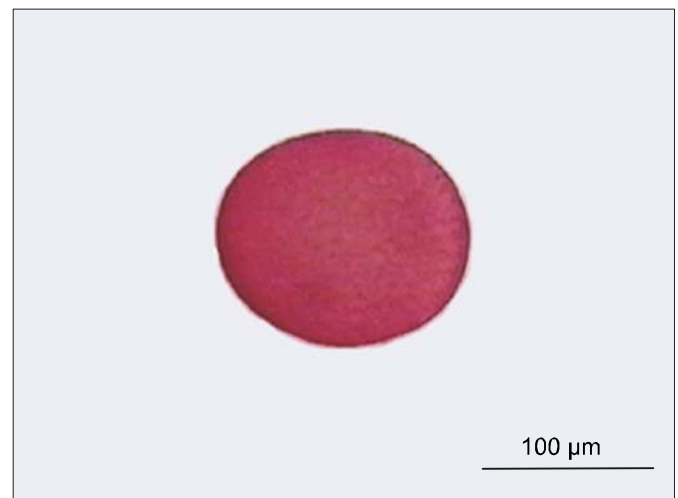


Figura 1. Huevos de *Plicopurpura pansa* con vitelo abundante. Escala = 100 μm .

Figure 1. *Plicopurpura pansa* eggs with abundant yolk content. Scale = 100 μm .

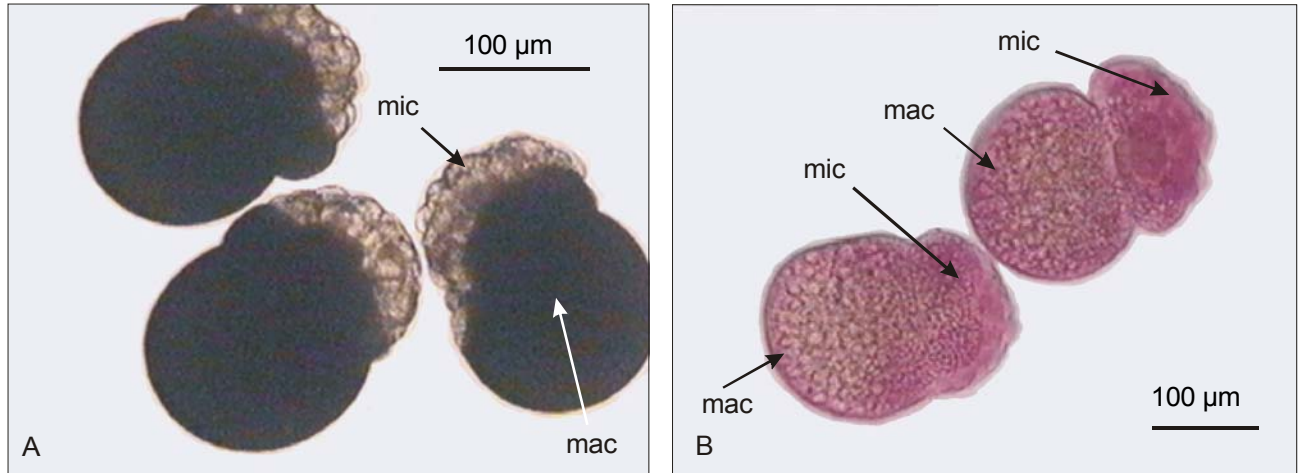


Figura 2. Blástulas resultantes de una segmentación espiral desigual con varios micrómeros (**mic**) en el polo animal y un macrómero (**mac**) muy grande en el polo vegetal. (A) Embriones sin teñir y (B) teñidos. Escala = 100 µm.

Figure 2. Blastulae resulting from an unequal spiral cleavage, showing several micromeres (**mic**) at the animal pole and a larger macromere (**mac**) at the vegetal pole. (A) Embryos unstained and (B) stained. Scale = 100 µm.

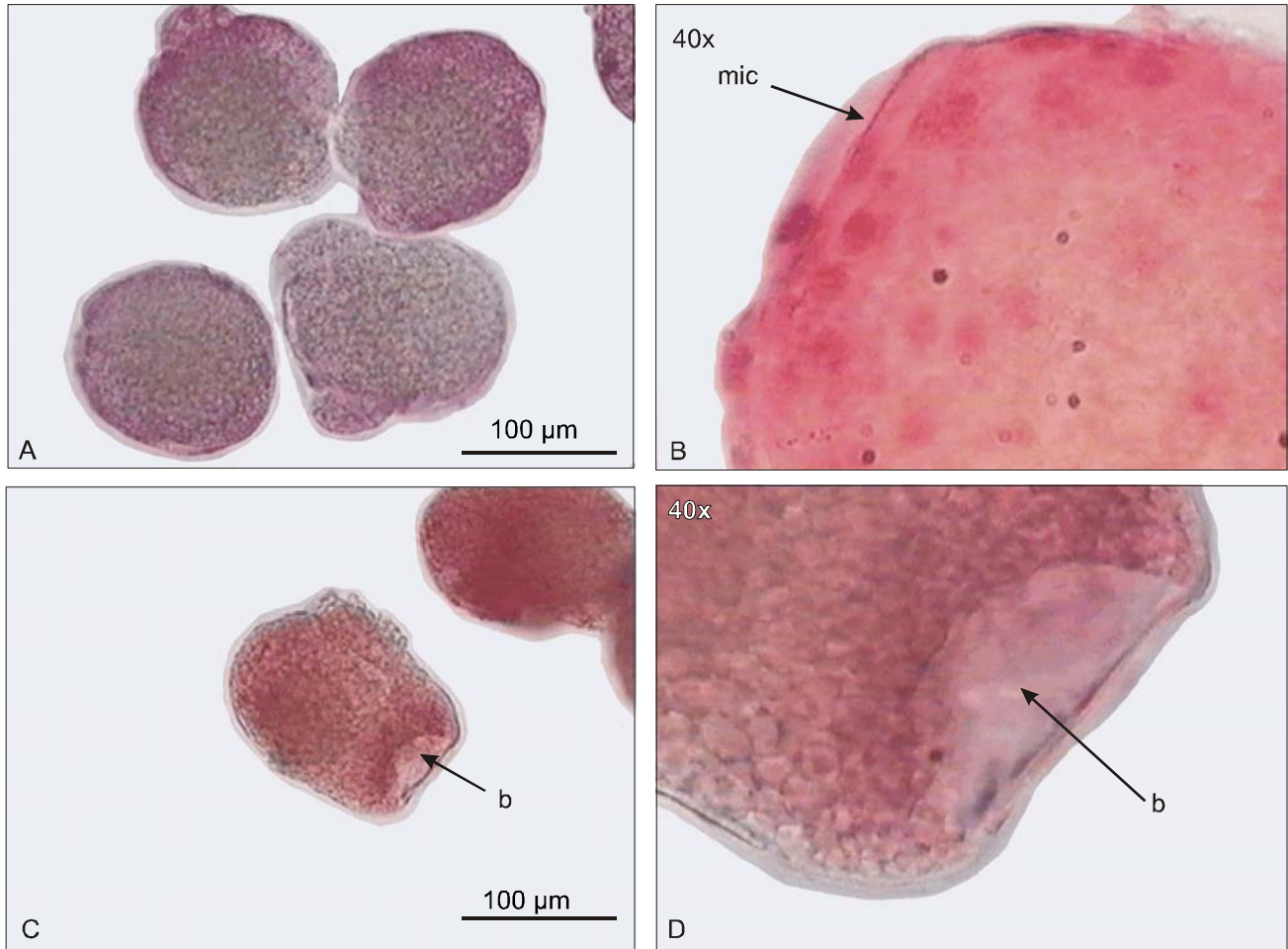


Figura 3. (A) Una gástrula con inicios de epibolia y tres trocóforas tempranas. (B) Detalle de la gastrulación por epibolia realizada por los micrómeros (**mic**). (C) Gástrula mostrando el blastoporo (**b**) como resultado del término de la epibolia. (D) Detalle del blastoporo (**b**). Escala = 100 µm.

Figure 3. (A) Gastrula with early epibolic gastrulation and three early trochophores. (B) Detail of the early epibolic gastrulation of micromeres (**mic**). (C) Gastrula with the blastopore (**b**) as a result of the finished epiboly. (D) Blastopore (**b**). Scale = 100 µm.

productos de excreción durante la fase embrionaria. Se observa la presencia de cilios en el blastoporo, en las protuberancias laterales (riñones larvarios) y en el extremo opuesto al blastoporo. Largo: 187 μm (DE $\pm$ 57, rango: 147–408 μm). Ancho: 164 μm (DE $\pm$ 42.4, rango: 132–361 μm).

Día 15: Larva trocófora. Riñones larvarios bien desarrollados. Cilios presentes en ambos extremos (anterior y posterior) de la larva. Se observan el estomodeo (fig. 4a) y la prototroca. El extremo posterior no es tan redondeado como el anterior, y se observó en él una placa con células planas que se tiñó más fuertemente y que corresponde a la placa de la concha, a partir de la cual se forma la glándula de la concha (fig. 4b). Largo: 242 μm (DE $\pm$ 17.2, rango: 210–282 μm). Ancho: 207 μm (DE $\pm$ 25.6, rango: 163–289 μm).

Días 17–18: Larva preveliger. Una capa de células aplanadas recorre toda la periferia de la larva y dará origen el ectodermo. Su región anterior es ciliada hasta el inicio de los riñones larvales. Se observa un espacio entre este epitelio ciliado y la zona ligeramente anterior al estomodeo, en el cual se llevará a cabo la formación del velum de la larva veliger, y el epitelio ciliado constituirá el inicio de sus lóbulos (fig. 5a, c, d). Los riñones larvarios son más protuberantes y más alargados, alcanzando casi el extremo posterior de la larva. El estomodeo de la larva preveliger está delimitado por células que van de aplanadas a cúbicas ciliadas (fig. 5b). De la boca hacia la región posterior de la larva se esboza la presencia de una estructura tubular-sacular que termina hacia el vitelo y que corresponderá al futuro tracto digestivo (fig. 5c). El vitelo relacionado con el futuro aparato digestivo es muy diferente a las plaquetas que contenía el macrómero, y presenta un aspecto granular muy fino. Se observaron estatocistos en algunas larvas preveliger. Largo: 262 μm (DE $\pm$ 23.7, rango: 222–334 μm). Ancho: 187 μm (DE $\pm$ 34.4, rango: 132–238 μm).

Días 19–24: Larva veliger. Las larvas se presentan parcial y totalmente introducidas en la concha, mostrando ésta varias etapas de desarrollo, sin y con espira (protoconcha); las más tempranas muestran el extremo anterior ciliado con un aspecto muy similar al del estadio anterior. También se presentan cilios de la prototroca (fig. 6b), los riñones larvarios son aún notorios (fig. 6a, d), y la región cardíaca aparece como una estructura bipartita (fig. 6e). La calcificación de la protoconcha ya es evidente (fig. 6f). Otras larvas muestran una membrana externa muy teñida (periostraco). Ojos y estatocistos están presentes (fig. 7a, b). Los estatocistos muestran una zona central de aspecto granulado y un epitelio externo con una ornamentación radial a manera de rayos de bicicleta. Algunas larvas presentan el proceso de torsión completo. El opérculo se observa como una zona alargada, muy delgada y refringente en el lado externo del pie. El pie está formado por células cúbicas ciliadas en su extremo distal (fig. 8a, b). Largo: 262 μm (DE $\pm$ 18.2, rango: 249–271 μm). Ancho: 194 μm (DE $\pm$ 36.3, rango: 141–217 μm).

distanced from it (fig. 2a, b). Length: 198 μm (SD $\pm$ 88.5, range: 166–282 μm). Width: 172 μm (SD $\pm$ 58.6, range: 128–343 μm).

Days 8–12: Gastrulation. In embryos with initial gastrulation, the peripheral micromeres flatten to initiate displacement through epiboly (fig. 3a, b). In those where this has finished, the blastopore is observed (fig. 3c, d). Length: 198 μm (SD $\pm$ 88.5, range: 166–282 μm). Width: 172 μm (SD $\pm$ 58.6, range: 128–343 μm). The formation of the so-called larval kidneys begins, which according to Fretter and Graham (1994), are projections of the ectoderm of one or several cells where excretory products accumulate during the embryonic phase. Cilia are visible in the blastopore, in the lateral projections (larval kidneys) and on the opposite side of the blastopore. Length: 187 μm (SD $\pm$ 57, range: 147–408 μm). Width: 164 μm (SD $\pm$ 42.4, range: 132–361 μm).

Day 15: Trochophore larva. Larval kidneys well developed. Cilia present at both ends (anterior and posterior) of the larva. Stomadaeum (fig. 4a) and prototroch visible. The posterior end is not as rounded as the anterior. A plate with flat cells is observed in the posterior end, which stained stronger and corresponds to the shell plate that will form the future protoconch (fig. 4b). Length: 242 μm (SD $\pm$ 17.2, range: 210–282 μm). Width: 207 μm (SD $\pm$ 25.6, range: 163–289 μm).

Days 17–18: Preveliger larva. A layer of flattened cells covers the periphery of the larva to form the ectoderm. Anterior region is ciliated until larval kidneys begin. There is a space between this ciliated epithelium and the area just before the stomadaeum where the velum of the veliger larva will form, and the ciliated epithelium will constitute the beginning of the lobes (fig. 5a, c, d). The larval kidneys are more protuberant and longer, nearly reaching the posterior end of the larva. The stomadaeum of the preveliger larva is delimited by flat to ciliated-cubic cells (fig. 5b). From the mouth to the posterior region of the larva there are traces of a tubular-sacular structure ending near the yolk, which corresponds to the future digestive tract (fig. 5c). The yolk related to the future digestive tract differs from the platelets contained in the macromere, having a very fine granular aspect. Statocysts were visible in some preveliger larva. Length: 262 μm (SD $\pm$ 23.7, range: 222–334 μm). Width: 187 μm (SD $\pm$ 34.4, range: 132–238 μm).

Days 19–24: Veliger larva. Larvae are partially or entirely introduced into the shell, which presented several stages of development: with and without whorls (protoconch). The earliest show the ciliated anterior region with similar appearance to the previous stage. Prototroch cilia (fig. 6b) and larval kidneys are still noticeable (fig. 6a, d), and a bipartite structure is observed in the cardiac region (fig. 6e). Protoconch with evident calcium deposition (fig. 6f). Other larvae present a very stained external membrane (periostrac). The eyes and

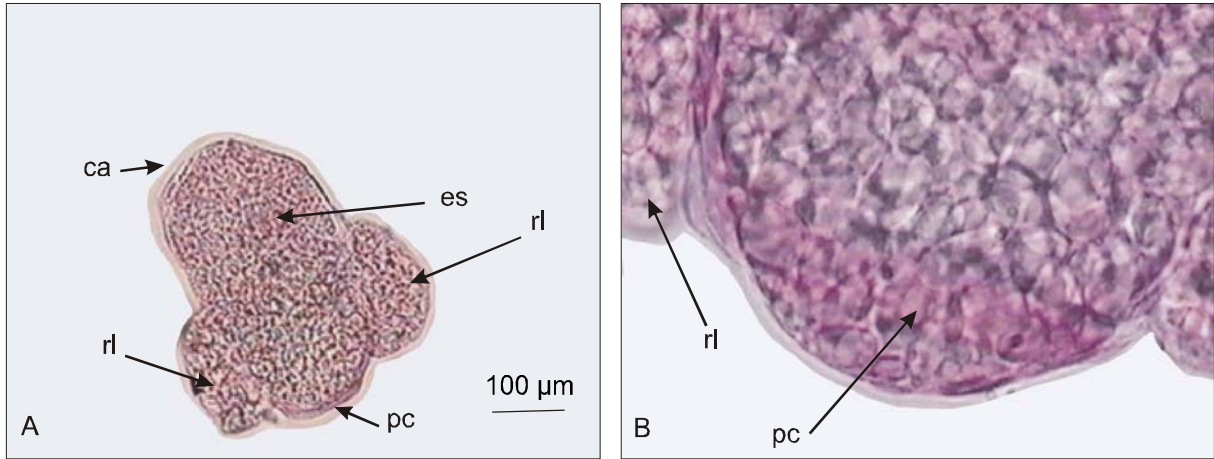


Figura 4. (A) Trocófora temprana con riñones larvianos (rl) observados como proyecciones laterales del ectodermo, cilios en región anterior (ca), estomodeo (es) y placa de la concha (pc) en el extremo posterior del cuerpo. **(B)** Detalle de la placa de la concha que dará lugar a la futura protoconcha. Escala = 100 µm.

Figure 4. (A) Early trochophore showing the larval kidneys (rl), seen like lateral ectodermic projections, ciliated anterior area (ca), stomodaeum (es), and the posterior shell plate (pc). **(B)** Detail of the shell plate that will form the future protoconch. Scale = 100 µm.

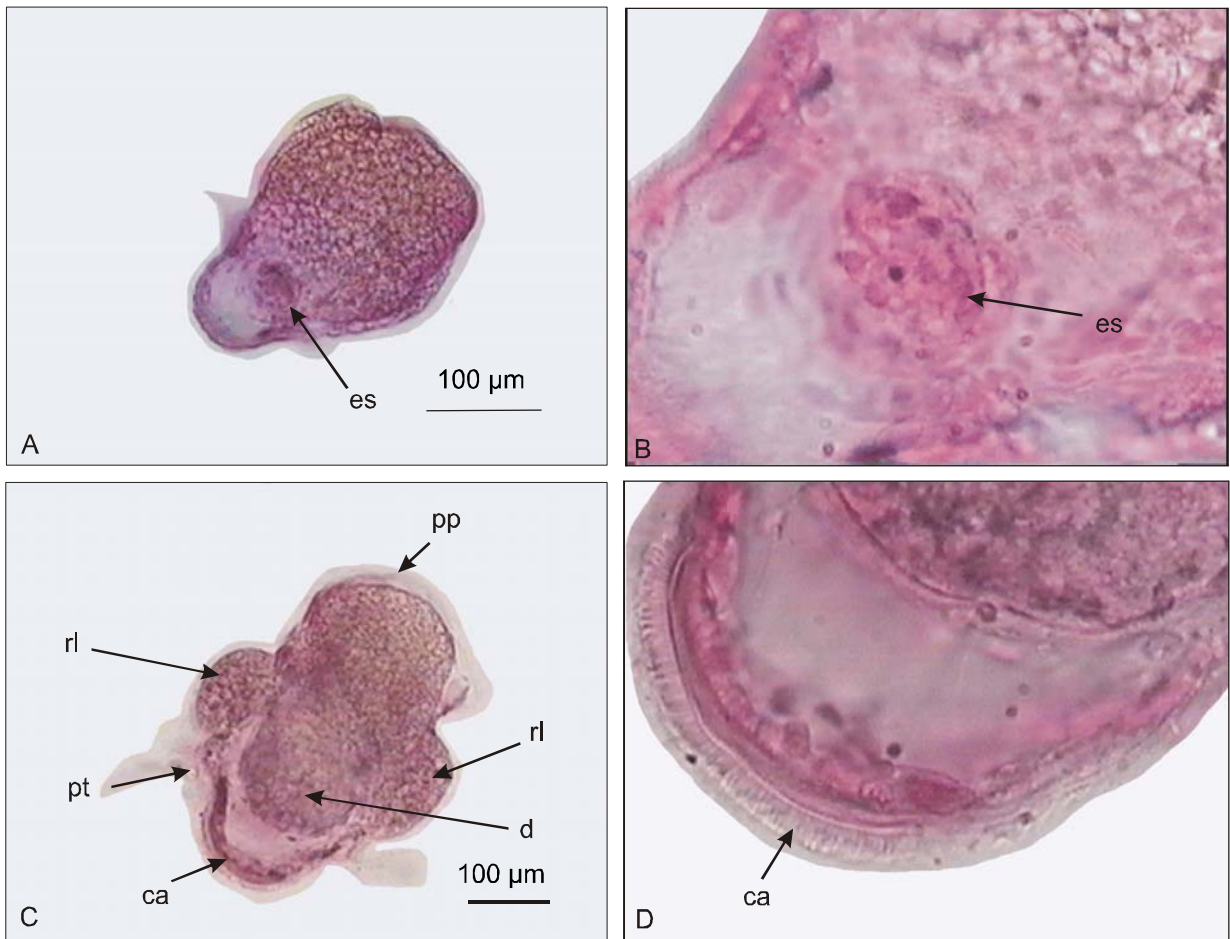


Figura 5. (A, B) Larvas preveliger mostrando el estomodeo (es); cilios anteriores (ca); prototroca (pt), placa posterior ciliada (pp), futuro tracto digestivo (d) y riñones larvianos (rl). Escala = 100 µm.

Figure 5. (A, B) Preveliger larvae with stomodaeum (es); **(C, D)** anterior cilia (ca), prototroch (pt), ciliated posterior plate (pp), future digestive tract (d) and larval kidneys (rl). Scale = 100 µm.

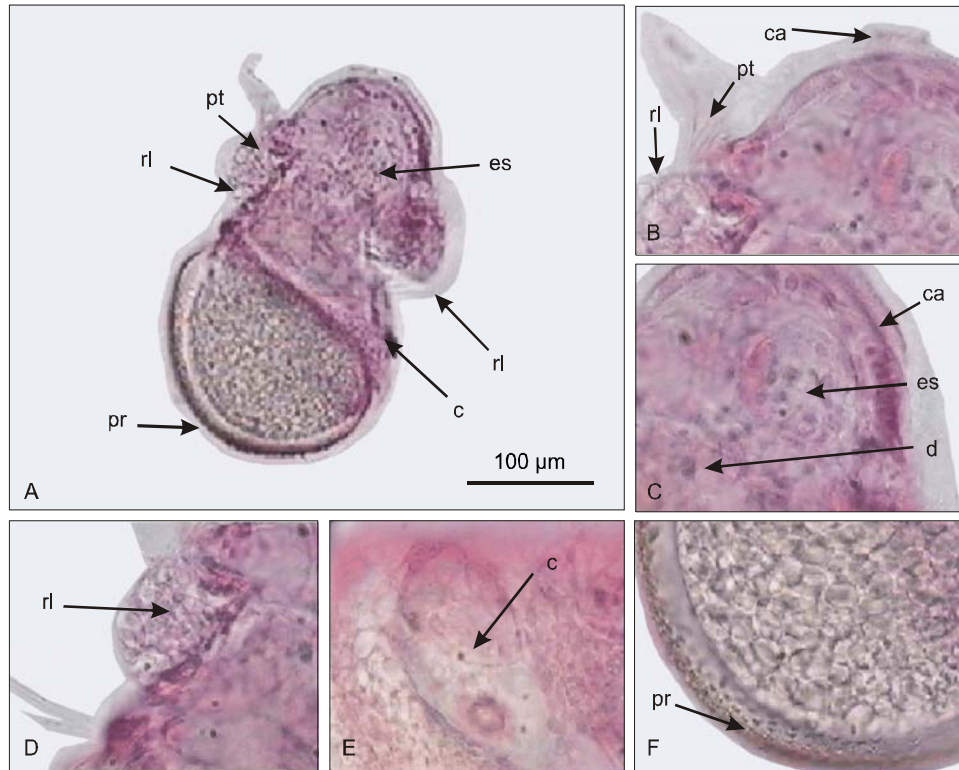


Figura 6. (A) Larva veliger temprana con concha larval (protoconcha, **pr**), estomodeo (**es**), riñones larvares (**rl**), corazón (**c**) y prototroca (**pt**); (B) aún se observan los cilios de la prototroca y cilios de la región anterior (**ca**); (C) el estomodeo está mejor detallado y se observan esbozos del futuro aparato digestivo (**d**); (D) los riñones larvares también son notorios; (E) en la región cardiaca se observa una estructura bipartita que constituye al corazón; y (F) la protoconcha ya evidencia el proceso de calcificación. Escala = 100 μ m.

Figure 6. (A) Early veliger larva with larval shell (protoconch, **pr**), stomodaeum (**es**), larval kidneys (**rl**), heart (**c**) and prototroch (**pt**); (B) the cilia of the prototroch and anterior region (**ca**) are still observed; (C) the stomodaeum is better-detailed and traces of the future digestive system (**d**) are observed; (D) the larval kidneys are noticeable; (E) a bipartite structure, the heart, is observed in the cardiac region; and (F) the protoconch has evident calcium deposition. Scale = 100 μ m.

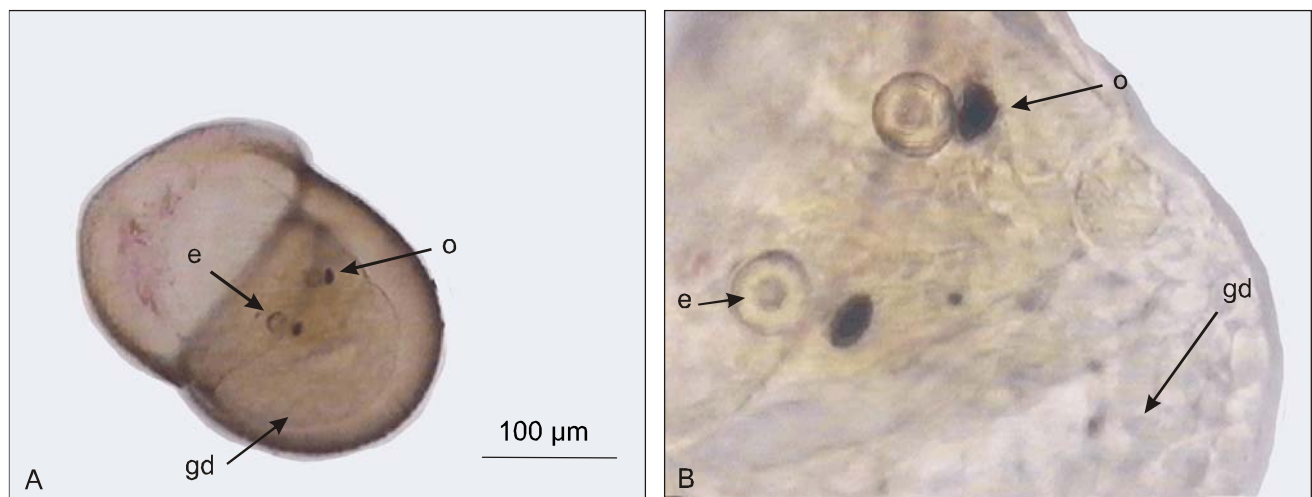


Figura 7. (A, B) Larva veliger totalmente introducida en la concha. Se observan con más claridad ojos (**o**), estatocistos (**e**) y glándula digestiva (**gd**). Escala = 100 μ m.

Figure 7. (A, B) Veliger larvae totally introduced into the shell. The eyes (**o**), statocysts (**e**) and digestive gland (**gd**) are clearly visible. Scale = 100 μ m.

Días 27–56. En las larvas que muestran concha más desarrollada se observó un espacio considerable entre ésta y el cuerpo de la larva. El manto es visible en la pared interna de la abertura de la concha, con áreas blanquecinas como si fueran células secretoras. Es notorio el velum bilobulado y ciliado con células que van de cúbicas a cilíndricas. En ambos lados de la región anterior de la larva se observaron pequeños bordes con cilios más grandes que los demás, y que corresponden a los cilios preorales del velum. Los cilios del velum son muy largos y se dirigen hacia la abertura de la concha (fig. 8b). En algunas larvas se observa el complejo ojo-estatocisto rodeado por un epitelio plano. Es notoria la presencia de tentáculos relativamente largos y aparentemente no asociados directamente a los ojos, ya que éstos se ven muy separados de ellos. En larvas con mayor desarrollo el pie está constituido por paquetes musculares cortos que lo hacen más grueso y grande, con pigmentación roja, y el epitelio cúbico ya no es ciliado.

Hay fibras musculares que corren del pie hacia el extremo opuesto y que representan al músculo retractor, que se hace más ancho en las larvas más desarrolladas (fig. 8c). Inmediatamente posteriores a los cilios preorales, se encuentran los

statocysts are evident (fig. 7a, b), the latter with a granulated central zone and external epithelium with a radial ornamentation like bicycle spokes. The operculum is a thin, elongated and refracting area at the outer side of the foot. The foot is formed by ciliated cubic cells (fig. 8a, b). Length: 262 μm (SD ± 18.2 , range: 249–271 μm). Width: 194 μm (SD ± 36.3 , range: 141–217 μm).

Days 27–56. In larvae with a more developed shell, a considerable space is observed between it and the body. Mantle is visible on the internal wall of the shell opening with whitish areas as if they were secretory cells. The bilobed velum is noticeable, ciliated with cubic to cylindrical cells. On both sides of the larva's anterior region, small edges are observed with larger cilia than the rest, corresponding to the preoral cilia of the velum. The velum's cilia are very long and directed towards the shell opening (fig. 8b). Some larvae present the eye-statocyst complex surrounded by a flat epithelium. Relatively long tentacles are evident, apparently unassociated with the eyes because of their separation from them. In more developed larvae, the foot is formed by short muscular

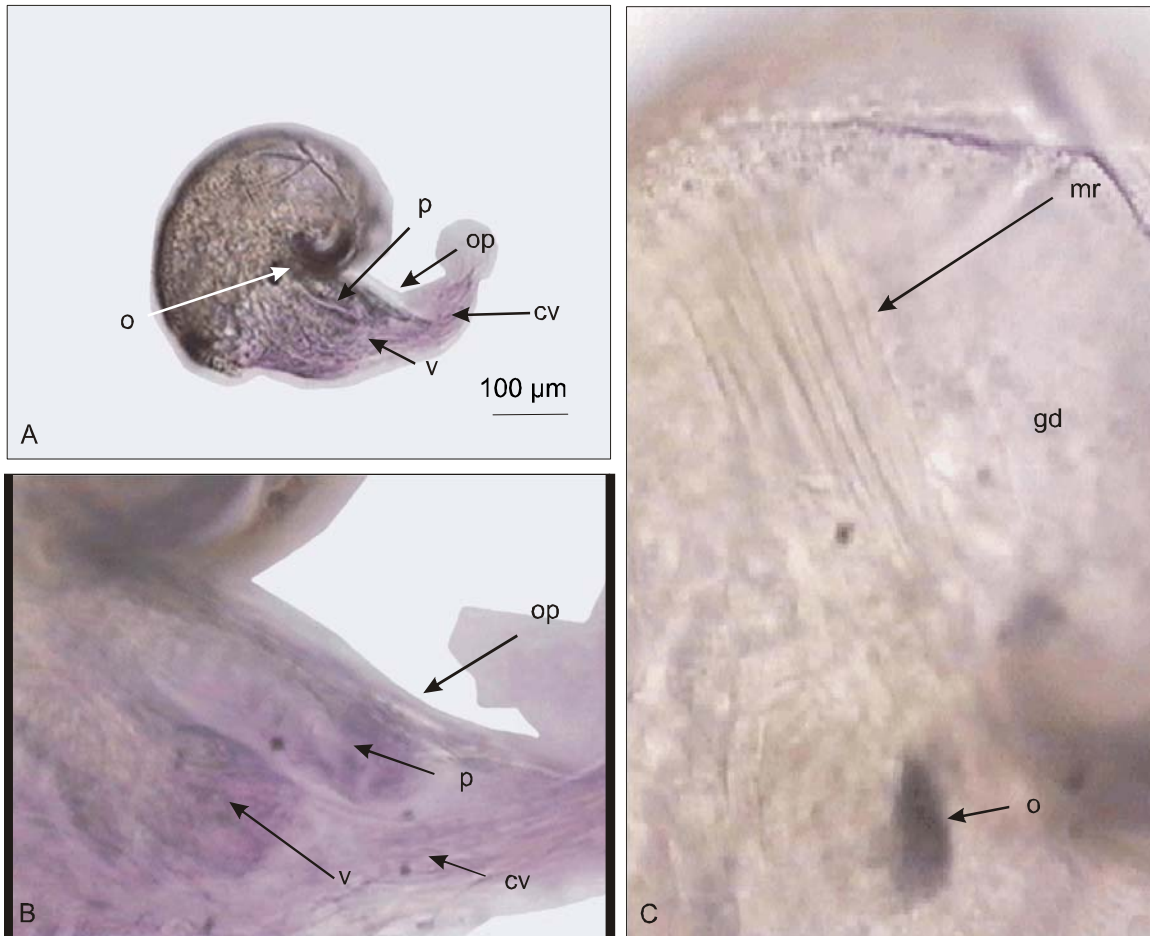


Figura 8. (A, B) Larva veliger con velum bilobulado (v) y ciliado (cv), pie (p), opérculo (op) fuera de la concha y ojo (o). (C) Evidente depositación de calcio de la concha, músculo retractor (mr), glándula digestiva (gd) y ojo (o). Escala = 100 μm .

Figure 8. (A, B) Veliger larvae with ciliated (cv) and bilobed velum (v), foot (p), operculum (op) out of the shell and eye (o). (C) Shell with evident calcium deposition, retractor muscle (mr), digestive gland (gd) and eye (o). Scale = 100 μm .

riñones larvales de tamaño notablemente más reducido y aparentemente iniciando su absorción. Boca ligeramente anterior al inicio de los riñones. El vitelo relacionado con el futuro aparato digestivo mantiene el aspecto granular muy fino, acompañado de gránulos de pigmento oscuro, también muy fino y de arreglo disperso. En la parte posterior de la larva el vitelo es menos abundante, por lo que se ve un mayor espacio entre éste y la concha, observándose un pigmento rojo donde antes había vitelo. Se observa un cambio en el aspecto de lo que antes era vitelo, tornándose ahora más vesicular y de tonalidad más clara: la glándula digestiva (figs. 7b, 8c). La porción terminal del vitelo-glándula digestiva se encuentra adherida por su pared a la concha. Posible estómago ciliado. Latero-ventralmente, entre la concha y el vitelo fino, se observa una estructura ligeramente alargada constituida por dos regiones que parece ser la región cardíaca de la larva. Presencia de pigmento rojo en las áreas adyacentes. Largo: 188 μm (DE $\pm$ 40.4, rango: 153–332 μm). Ancho: 222 μm (DE $\pm$ 32.4, rango: 180–343 μm).

Una observación interesante fue que en 13% de las cápsulas estudiadas se encontraron, en la misma cápsula, diferentes estadios de desarrollo: huevos y larvas preveliger.

Discusión

Cada una de las hembras depositó más de 150 cápsulas por estación reproductiva y cada cápsula contenía, en promedio, 400 huevos/embriones, indicando que una hembra produce más de 50,000 huevos/embriones por estación reproductiva (obs. pers., no publicadas). Fecundidades altas en animales van acompañadas de mortalidades larvales altas (Spight, 1976). Una hembra, en promedio, produce tal cantidad de huevos durante su ciclo de vida que asegura que al menos una hembra de su descendencia sobreviva y se reproduzca, como Spight (1975) dedujo de estudios sobre fecundidad, estructura de tallas y conteos de juveniles de *Thais lamellosa* (Gmelin).

En relación con el cambio de color de las cápsulas observado a lo largo del desarrollo, de blanquecino a amarillento y a café oscuro, éste se debe al desarrollo de embriones/larvas vivos. Los embriones/larvas en cápsulas de color púrpura corresponden a organismos no viables. Al respecto, Gallardo (1973) y Riquelme y Chávez (1991) mencionaron que el color púrpura de las cápsulas de huevos no viables del muricido *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789), se debía a su contaminación por bacterias. Asimismo, D'Asaro (1966) identificó que el color púrpura de las cápsulas de *Thais haemastoma floridana* (Conrad, 1837) se debía a que contenían embriones muertos. Solamente las cápsulas recién puestas, dañadas, cambian el color de blanquecino a púrpura. En cápsulas con el desarrollo avanzado no se nota el cambio de la coloración. Sin embargo esto contradice las observaciones de Turok *et al.* (1988), quienes mencionaron que el cambio al color púrpura de las cápsulas con huevos de *P. pansa* era debido a la maduración de los embriones.

packages that make it thicker and larger with red colouring, and the cubic epithelium is no longer ciliated.

Muscular fibres run from the foot to the opposite end and correspond to the retractor muscle, which is wider in the more developed larvae (fig. 8c). The evidently smaller larval kidneys are visible immediately after the preoral cilia, their absorption apparently beginning. The mouth is slightly anterior to the beginning of the kidneys. The yolk related to the future digestive system still has a very fine granular appearance, accompanied with scattered dark-pigmented fine granules. In the larva's posterior region, the yolk is less abundant, revealing more space between it and the shell and a red pigment where the yolk used to be. A change in the appearance of the yolk is noted, which is now more vesicular and lighter in colour: the digestive gland (figs. 7b, 8c). The end portion of the yolk-digestive gland is adhered by its wall to the shell. Possible ciliated stomach. Latero-ventrally, between the shell and the fine vitellus, there is a slightly elongated structure formed by two regions that seems to be the cardiac region of the larva, and red pigment is visible in the area around it. Length: 188 μm (SD $\pm$ 40.4, range: 153–332 μm). Width: 222 μm (SD $\pm$ 32.4, range: 180–343 μm).

An interesting observation is that in 13% of the egg capsules studied, different embryonic and larval stages of development were found in the same capsule: eggs and preveliger larvae.

Discussion

Females deposited more than 150 capsules each per reproductive season and each capsule contained, on average, 400 eggs/embrions, indicating that one female produces more than 50,000 eggs/embrions per reproductive season (unpublished pers. obs.). In animals, high fecundities are usually accompanied by high larval mortalities (Spight, 1976). The amount of eggs produced by an average female during her life cycle assures that at least one of her female descendants will survive and reproduce, as deduced by Spight (1975) in studies on fecundity, size structure and juvenile counts of *Thais lamellosa* (Gmelin).

The capsules changed in colour, from whitish to yellowish, and to dark brown, due to the development of live embryos/larvae. Non-viable embryos/larvae are found in purple-coloured capsules. Gallardo (1973) and Riquelme and Chávez (1991) mention that bacterial contamination is responsible for the purple colour of non-viable egg capsules of the muricid *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789). Likewise, D'Asaro (1966) found that the purple-coloured capsules of *Thais haemastoma floridana* (Conrad, 1837) contained dead embryos. Only recently spawned and damaged capsules change in colour from whitish to purple. The change in colouration is not observed in capsules with advanced development. This, however, does not concur with Turok *et al.* (1988), who

Benkendorff *et al.* (2000) mencionaron que los precursores de la tinta observados en cápsulas del muricido australiano *Dicathais orbita* (Gmelin, 1791) podrían tener propiedades antimicrobiales cuyos efectos disminuyen con el desarrollo. Cerca de la eclosión las cápsulas desarrollan el color púrpura.

En cuanto a la talla de huevos y larvas así como al número de éstos contenido por cápsula, se puede considerar que en este estudio el promedio coincide el registrado para otros muricidos (tabla 1). Todos los huevos observados de *P. pansa* estaban fecundados y no se encontraron huevos nutricios, lo que indica un desarrollo dependiente de los recursos vitelinos al igual que lo observado en el muricido *C. concholepas* (Gallardo, 1973).

Los huevos de *P. pansa* presentaron segmentación espiral, marcadamente desigual, con la formación de micrómeros en el polo animal y un macrómero de mayor tamaño debido a la cantidad de vitelo contenido en el polo vegetal, similar a lo descrito en otros muricidos como *C. concholepas* (Gallardo, 1973), *T. haemastoma floridana* (D'Asaro, 1966), *T. haemastoma canaliculata* (Roller y Stickle, 1988) y *T. chocolata* Duclos, 1832 (Bautista *et al.*, 1995). Asimismo, la gastrulación por epibolia se realiza tanto en *P. pansa* como en las especies antes mencionadas.

Acevedo-García *et al.* (1993) mencionaron en *P. pansa* una larva trocófora típica similar a la de los bivalvos, cilíndrica, con forma característica de barril, sin embargo no se hace mención de la presencia de los riñones larvarios, lo que nos sugiere una diferencia morfológica. Con relación a la morfología de la larva trocófora, Roller y Stickle (1988) con ayuda del microscopio electrónico de barrido, observaron en *T. haemastoma canaliculata* una larva distinta a la típica. En este trabajo, el resultado obtenido usando la técnica de tinción de carmín acético fue muy similar al obtenido en *T. haemastoma canaliculata* por Roller y Stickle (1988), al descrito en *C. concholepas* por Gallardo (1973), y en *T. chocolata* por Bautista *et al.* (1995).

La transición de un estadio embrionario a un estadio larvario de vida libre es más obvia en el sistema excretor. Fretter y Graham (1994) mencionan que la formación de los riñones definitivos en las diferentes especies de gasterópodos puede realizarse mediante el desprendimiento o absorción de los riñones larvarios. En las larvas de *P. pansa* del presente estudio se observó la reabsorción de los riñones larvarios como lo describe D'Asaro (1966) para *T. haemastoma floridana*. Por su parte, Gallardo (1973) mencionó que los riñones larvarios de *C. concholepas* se desprenden aproximadamente dos semanas antes de eclosionar.

En este trabajo la formación de la concha y de algunas estructuras internas de *P. pansa* se realizó en tiempos más tardíos que los registrados en otros muricidos. Gallardo (1973) observó la presencia de la protoconcha a partir del 10º día de desarrollo en *C. concholepas*, en contraste con el presente trabajo en el que dicha estructura fue notoria en el día 15 de desarrollo. El pie y opérculo se hicieron presentes a los 19 días, coincidiendo con lo descrito por Gallardo (1973), al igual que la presencia de los ojos y el velum. Es importante mencionar

reported that *P. pansa* egg capsules turned purple because of the maturation of the embryos.

Benkendorff *et al.* (2000) reported that the precursors of the dye observed in the egg capsules of the Australian muricid *Dicathais orbita* (Gmelin, 1791) could have antimicrobial properties, whose effects decrease with development. The capsules acquire the purple colour when hatching is about to occur.

The size of the eggs and larvae and the number contained per capsule are within the average recorded for other muricids (table 1). All the *P. pansa* eggs observed were fertilized and nurse eggs were not found. This indicates that development depends on yolk resources, like that reported for the muricid *C. concholepas* (Gallardo, 1973).

The eggs of *P. pansa* presented a notably unequal spiral segmentation, with the formation of micromeres in the animal pole and a larger macromere, because of abundant yolk content, in the vegetal pole. This process is similar to that described for *C. concholepas* (Gallardo, 1973), *T. haemastoma floridana* (D'Asaro, 1966), *T. haemastoma canaliculata* Gray, 1839 (Roller and Stickle, 1988), and *T. chocolata* Duclos, 1832 (Bautista *et al.*, 1995). Gastrulation by epiboly also occurs in *P. pansa* and in these species.

Acevedo-García *et al.* (1993) reported a cylindrical, barrel-shaped trochophore larva for *P. pansa* similar to that of bivalves, but do not mention the presence of larval kidneys, which indicates a morphological difference. Regarding the morphology of the trochophore larva, Roller and Stickle (1988), using a scanning electron microscope, observed a non-typical larva in *T. haemastoma canaliculata*. In this study, using the acetic carmin staining technique, the result obtained is similar to that reported for *T. haemastoma canaliculata* by Roller and Stickle (1988), for *C. concholepas* by Gallardo (1973), and for *T. chocolata* by Bautista *et al.* (1995).

The transition from an embryonic to a free-living larval stage is more obvious in the excretory system. Fretter and Graham (1994) mention that the formation of definitive kidneys in different species of gastropods can occur by detachment or absorption of the larval kidneys. In the *P. pansa* larvae of this study, reabsorption of the larval kidneys was observed as described by D'Asaro (1966) in *T. haemastoma floridana*. Also, Gallardo (1973) reported that the larval kidneys of *C. concholepas* detach approximately two weeks before hatching occurs.

In the present work, the formation of the shell and of some internal structures of *P. pansa* took longer than that recorded for other muricids. Gallardo (1973) observed the presence of the protoconch in *C. concholepas* after 10 days of development, whereas this structure was visible on day 15 in this study. However, the presence of the foot and operculum on day 19 concurs with that described by Gallardo (1973), as does the presence of the eyes and velum. It is important to mention that the eyes varied in shape, from simple aggregates of pigmentary cells to semilunar or rounded compact structures. The retractor

Tabla 1. Parámetros de desarrollo de algunos murícidos con desarrollo indirecto.
Table 1. Developmental parameters of some muricids with indirect development.

Especies	Diámetro del huevo (µm)	Embriones por cápsula	Talla larval (µm)	Trocófora (días)	Véliger (días)	Días de desarrollo	Temperatura (°C)	Autor
<i>Thais haemastoma floridana</i>	---	---	---	7	11-14	28	24	D'Asaro, 1966
<i>T. haemastoma canaliculata</i>	---	---	---	5.5-6	7	13	25-26	Roller y Stickle, 1988
<i>T. lamellosa</i>	590	---	1000	---	---	67-91	9.6-11	Gallardo y Perron, 1982
<i>T. chocolata</i>	125	---	---	---	---	---	---	Gallardo y González, 1994
<i>T. chocolata</i>	143	1094	243	7	15-20	21	22.5	Bautista <i>et al.</i> , 1995
<i>Concholepas concholepas</i>	158-169	2600-13187	260	12-13	19	36-37	16.6	Gallardo, 1973
<i>C. concholepas</i>	---	---	---	---	---	69-128	13.5-14.5	Castilla y Cancino, 1976
<i>C. concholepas</i>	---	---	---	---	---	---	---	Ramorino, 1975
<i>C. concholepas</i>	147-170	---	250-260	---	---	60-84	12-14	Ramorino, 1979
<i>Xanthochorus cassidiformis</i>	232	325-733	425	---	---	30-34	16-20	Gallardo y González, 1994
<i>Purpura patula</i>	240	---	400	---	---	---	---	Lewis, 1960
<i>Plicopurpura pansa</i>	---	---	---	12-15	18-22	28-31	---	Acevedo <i>et al.</i> , 1993
<i>P. pansa</i>	149	95-1092	188 (concha)	12-15	19-47	36-65	21-23	Este trabajo

--- = Información no mencionada en la fuente.

que los ojos variaron en forma, desde simples agregados de células pigmentarias hasta estructuras compactas semilunares o redondeadas.

El músculo retractor es visible a partir de los 22 días en *C. concholepas* (Gallardo, 1973), en contraste con los 27 días a los que fueron visibles en *P. pansa*. El mismo autor menciona que el desarrollo de otras estructuras como el estómago larval, la glándula digestiva, el corazón larval, los estatocistos y los tentáculos con escaso desarrollo, se observan a los 30–31 días del desarrollo. En este trabajo, los estatocistos empiezan a observarse en la etapa preveliger, es decir a los 17 días, y el resto de estructuras a los 27 días. La temperatura de cultivo tiene un impacto significativo en el desarrollo larvario. Este hecho es claro en los estudios con *C. concholepas*: a una temperatura del agua de 12–14°C, el desarrollo tomó de 60–84 días hasta la eclosión, mientras que a una temperatura de 16.6°C tardó solamente 36 días. El periodo del desarrollo de *Xanthochorus cassidiformis* (Blainville, 1832) hasta la eclosión a una temperatura de 16–20°C tardó solamente 30–34 días (Gallardo y González, 1994). La temperatura alta del agua acorta el periodo de desarrollo larvario. La temperatura en nuestro laboratorio (21–23°C) fue similar a la temperatura del agua en el campo de enero a marzo, periodo en el que se encontraron cápsulas en el campo. No se conoce la duración del desarrollo intra-capsular hasta la eclosión en el campo. El tiempo de eclosión registrado en nuestros experimentos fue prolongado, y éste pudo deberse a la temperatura fría del agua utilizada en el sistema de cultivo, así como a las variaciones en la temperatura del agua usada en los recambios, la cual de manera excepcional durante pocos días en el verano alcanzó más de 28°C (tabla 1).

Roller y Stickle (1989) encontraron que salinidades bajas retardan el desarrollo intra-capsular del muricido *T. haemastoma canaliculata*. Gallardo (1994) también demostró el mismo efecto en *C. concholepas*. Debido a intrusiones de agua dulce en el suministro de agua de mar durante mareas excepcionales, se tuvieron fluctuaciones en la salinidad en el sistema de cultivo, por lo que, en futuros experimentos sobre desarrollo intra-capsular, se tendrá que poner más atención en mantener estables las condiciones de temperatura y salinidad de los sistemas de cultivo.

Como se mencionó antes, en 13% de las cápsulas estudiadas se encontraron diferentes estadios de desarrollo embrionario y larvario en la misma cápsula, pudiendo observarse en la misma cápsula, la presencia de huevos y larvas preveliger. Al respecto, Le Boeuf (1971) describió una situación similar en el patrón de desarrollo intra-capsular de 25% de *T. emarginata* (Deshayes, 1839) donde las veliger contenidas en una sola cápsula tendían a variar en talla o en estadio de desarrollo, o en ambos. Moore y Sander (1978) describen una situación semejante al encontrar en la masa de huevos, y en la misma cápsula, de *Murex pomum* (Gmelin, 1791) un desarrollo no sincronizado, eclosionando en un periodo mayor a los 12 días. Algunas cápsulas contenían embriones/larvas de diferentes tallas y de diferentes incrementos en el desarrollo. Estas

muscle is evident after 22 days in *C. concholepas* (Gallardo, 1973), as opposed to 27 days in *P. pansa*. This author mentions that other structures like the larval stomach, digestive gland, larval heart, statocysts and scantily developed tentacles are visible after 30–31 days of development. In this study, the statocysts begin to be observed in the preveliger stage, that is, after 17 days, and the rest of the structures after 27 days.

Culture temperature has a significant effect on larval development. This can clearly be seen in studies with *C. concholepas*: at a water temperature of 12–14°C, hatching occurred after 60–84 days of development, whereas at a temperature of 16.6°C, it occurred after only 36 days. Hatching of *Xanthochorus cassidiformis* (Blainville, 1832) occurred after only 30–34 days at a temperature of 16–20°C (Gallardo and González, 1994). A high temperature shortens the period of larval development. The temperature in our laboratory (21–23°C) was similar to the water temperature in the field from January to March. Egg capsules were found in the field during this period. The duration of intracapsular development until hatching in the field is not known. In this study, the prolonged development period until hatching could be due to the cold temperature of the water used in the culture system, and to variations in temperature of the water used in the exchanges, reaching 28°C on a few exceptional days in summer (table 1).

Roller and Stickle (1989) found that low salinities retard intracapsular development of *T. haemastoma canaliculata*, and Gallardo (1994) observed the same effect in *C. concholepas*. Due to the encroachment of fresh water into the seawater supply during exceptional tides, fluctuations occurred in the salinity of the culture system. Future experiments on intracapsular development must be careful to maintain stable temperature and salinity conditions in the culture systems.

As previously mentioned, different stages of embryonic and larval development were found in the same capsule of 13% of those studied, eggs and preveliger larvae being observed in the same capsule. Le Boeuf (1971) described a similar situation in the intracapsular development of 25% of *T. emarginata* (Deshayes, 1839), where the veliger contained in a single capsule tended to vary in size or developmental stage or both. Similarly, Moore and Sander (1978) found non-synchronized development in the egg mass and in the same capsule of *Murex pomum* (Gmelin, 1791), hatching after 12 days. Some capsules contained embryos/larvae of different sizes and of different developmental increments. These differences can be attributed to fertilization occurring at different times or to variation in the rates of individual development.

Acknowledgements

We thank CONACYT for financial support (project No. 32566-N), and especially our colleagues in Chile, Germany and the USA for exchanging experiences and sending literature to “the end of the world”. Thanks to Carlos Augusto Aguilar-Cruz (UABCS), for his help to prepare samples, and Gerardo Ayala-Amezcu (UABCS), for digitalizing and editing the

diferencias pueden deberse a que la fecundación se realiza en diferentes momentos o por variación en las tasas de desarrollo individual.

Agradecimientos

Agradecemos la ayuda indispensable de colegas de Chile, Alemania y los EUA por intercambiar experiencias y enviar literatura al “fin del mundo”, además al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero (proyecto No. 32566-N). Gracias a Carlos Augusto Aguilar Cruz (UABCS) por su colaboración en la preparación de las muestras y a Gerardo Ayala Amezcua (UABCS) por la digitalización y edición de las figuras. Agradecemos también a los revisores anónimos por sus valiosas aportaciones al trabajo. L. Naegel es becario de la COFAA-IPN.

Referencias

- Acevedo-García, J. (1995). Aprovechamiento del tinte de *Purpura pansa* en el Pacífico Mexicano. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), Instituto Nacional de Pesca (INP) y Centro Regional de Investigación Pesquera (CRIP)-Patzcuaro, 22 pp.
- Acevedo-García, J., Escalante-Cavazos, M.A. y Turok-Wallace, M. (1993). El caracol púrpura. Su uso y manejo en México. Resumen. III. Reunión Nacional para el Estudio del Caracol Púrpura *Plicopurpura pansa*. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 35 pp.
- Anónimo (1988). Diario Oficial de la Federación. Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Mexicanos. Secretaría de Pesca, 30 de marzo 30, pp. 10–12.
- Anónimo (1994). Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-ECOL-059-1994, que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y loas sujetas a protección especial y que establece especificaciones para su protección. 16 de mayo de 1994, pp. 2–56.
- Bautista, J., Gamarra, C., Silva, I. y Retuerto, F. (1995). Observaciones sobre el desarrollo intercapsular en *Thais chocolata* (Duclos, 1832) (Gastropoda: Muricidae). Biotempo, 2: 91–96.
- Benkendorff, K., Bremner, J.B. and Davis, A.R. (2000). Tyrian purple precursors in the egg masses of the Australian muricid, *Dicathais orbita*: A possible defensive role. J. Chem. Ecol., 26(4): 1037–1050.
- Castilla, J.C. and Cancino, J. (1976). Spawning behaviour and egg capsules of *Concholepas concholepas* (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). Mar. Biol., 37: 255–263.
- Clench, W.J. (1947). The genera *Purpura* and *Thais* in the western Atlantic. Johnsonia, 2(23): 61–91.
- D’Asaro, C.N. (1966). The egg capsules, embryogenesis, and early organogenesis of a common oyster predator, *Thais haemastoma floridana* (Gastropoda: Prosobranchia). Bull. Mar. Sci., 16(4): 884–914.
- Fretter, V. and Graham, G. (1994). British Prosobranch Mollusks. Their Functional Anatomy and Ecology. Revised and updated edition. The Ray Society, London, 820 pp.
- Gallardo, C. (1973). Desarrollo intracapsular de *Concholepas concholepas* (Brugière) (Gastropoda, Muricidae). Museo Nacional de Historia Natural, Santiago de Chile, Publ. Ocas., 16: 3–16.
- Gallardo, C.S. (1994). Efecto de diferentes salinidades en la sobrevivencia embrionaria y desarrollo intracapsular del gasterópodo *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789) bajo condiciones de laboratorio. Rev. Biol. Mar., Valparaíso, 29(2): 263–279.
- Gallardo, C.S. and Perron, F.E. (1982). Evolutionary ecology of reproduction in marine benthic mollusks. Malacologia, 22(1–2): 109–114.
- Gallardo, C.S. y González, K. (1994). Ovipostura y desarrollo intracapsular de *Xanthochorus cassidiformis* (Blainville, 1832) (Gastropoda, Muricidae) de la costa sur de Chile. Gayana Zool., 58(1): 79–90.
- Keen, A.M. (1971). Sea Shells of Tropical West America: Marine Molluscs from Baja California to Peru. Stanford Univ. Press. Stanford, California, 1064 pp.
- Kool, S.P. (1993). Phylogenetic analysis of the Rapaninae (Neogastropoda: Muricidae). Malacologia, 35(2): 155–259.
- LeBoeuf, R. (1971). *Thais emarginata* (Deshayes): Description of the veliger and egg capsule. The Veliger, 14(2): 205–211.
- Lewis, J.B. (1960). The fauna of the rocky shores of Barbados, West Indies. Can. J. Zool., 38: 391–435.
- Moore, E.A. and Sander, F. (1978). Spawning and early life history of *Murex pomum* (Gmelin, 1791). The Veliger, 20(3): 251–259.
- Paredes, C., Huamán, P., Cordoso, F., Vivar, R. y Vera, V. (1999). Estado actual del conocimiento de los moluscos acuáticos en el Perú. Rev. Peruana Biol., 6(1): 5–47.
- Peña, G.G.M. (1970). Zonas de distribución de los gasterópodos marinos del Perú. An. Cient. Univ. Nac. Agraria, 8: 153–170.
- Ramorino-M., L. (1975). Ciclo reproductivo de *Concholepas concholepas* en la zona de Valparaíso. Rev. Biol. Mar., Valparaíso, 15(2): 149–177.
- Ramorino-M., L. (1979). Conocimiento científico actual sobre reproducción y desarrollo de *Concholepas concholepas* (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). Biol. Pesq. Chile, 12: 59–70.
- Riquelme, C.E. and Chavez, P.C. (1991). Colonization of vibrios on developmental stages of *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789) (Mollusca: Muricidae). In: K. Koop (ed.), Ecology of Marine Aquaculture. Workshop on Research in Aquaculture. Osorno, Chile, International Foundation for Science, Stockholm, pp. 84–95.
- Roller, R.A. and Stickle, W.B. (1988). Intracapsular development of *Thais haemastoma canaliculata* (Gray) (Prosobranchia: Muricidae) under laboratory conditions. Am. Malacol. Bull., 6(2): 189–197.
- Roller, R.A. and Stickle, W.B. (1989). Temperature and salinity effects of the intracapsular development, metabolic rates, and survival to hatching of *Thais haemastoma canaliculata* (Gray) (Prosobranchia: Muricidae) under laboratory conditions. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 125: 235–251.
- Schmidt, G.D. (1988). Essentials of Parasitology. 4th ed. W.C. Brown Publ., Dubuque, Iowa, 244 pp.
- Spight, T.M. (1975). On a snail’s chances of becoming a year old. OIKOS (Copenhagen), 26: 9–14.

English translation by Christine Harris.

- Spight, T.M. (1976). Ecology of hatching size for marine snails. *Oecologia* (Berlin), 24: 283–294.
- Turok, M., Sigler-M., A., Hernández-C., E., Acevedo-G., J., Lara-C., R. y Turcott, V. (1988). El Caracol Púrpura. Una Tradición Milenaria en Oaxaca. Secretaría de Educación Pública, Dirección General de Culturas Populares, México, DF, 164 pp.
- Turok, M. (1999). El caracol *Purpura pansa*: Un pequeño gran recurso. Programa Cultural Tierra Adentro. <http://www.cnca.gob.mx/cnca/buena/descentra/tierra/mturok.html>.
- Wellington, G.M. and Kuris, A.M. (1983). Growth and shell variation in the tropical eastern Pacific intertidal gastropod genus *Purpura*: Ecological and evolutionary implications. *Biol. Bull.*, 164: 518–535.