

DESARROLLO DEL ERIZO COMESTIBLE DE CHILE *LOXECHINUS ALBUS* Mol.

LUCIA ARRAU U.

SUMARIO:

1. Introducción.
2. Métodos de trabajo.
3. Gametos.
4. Fecundación y embriogénesis.
5. Desarrollo del esqueleto larval.
6. Desarrollo de la morfología externa.
7. Desarrollo del celoma.
8. Metamorfosis.
9. Desarrollo de las primeras placas y espinas.
10. Análisis de los resultados.
11. Bibliografía.

1.—INTRODUCCION

La importancia que tienen las formas larvales de los equinodermos en la sistemática de este grupo, ha sido señalada por Th. Mortensen quien estima de gran valor extender su estudio al mayor número de especies. Más aún, en "Report of the Lund University" (16), expresa el deseo de que naturalistas sudamericanos lleven a cabo el desarrollo de *Pseudoechinus magellanicus* (Philippi), *Loxechinus albus* (Mol.), *Coenocentrotus gibbosus* (Valenciennes) y *Tetrapyguis niger* (Mol.), especialmente el de los dos primeros, cuya posición sistemática es dudosa.

El valor económico que tiene en nuestro país la especie *Loxechinus albus* nos decidió a seguir su desarrollo lo más lejos que se pudiese, para ver la posibilidad de hacer en el futuro un estudio completo del ciclo vital, que permitiría establecer normas para su cultivo artificial (equinicultura).

Los resultados obtenidos en la fecundación artificial y crianza de las larvas han sido satisfactorios; a los 25 días los primeros erizos originados de larvas metamorfoseadas, deambulaban en el fondo del recipiente en que eran mantenidos, y actualmente, 64 ejemplares, que han cumplido 15 meses, crecen en perfectas condiciones en el acuario de la Estación.

2.—METODOS DE TRABAJO

Las dos dificultades importantes que hubo que vencer para conservar las larvas en buenas condiciones, fueron la alimentación y la mantención de un medio suficientemente oxigenado y libre de bacterias y protozoos dañinos. Por lo que respecta a la temperatura, se logró mantenerla, sin grandes inconvenientes, alrededor de los 13° C. Sólo en los primeros cuatro días subió en algunas ocasiones a 15° C contribuyendo posiblemente a aumentar el número de muertes que, por otra parte, es inevitable en poblaciones muy densas.

Como el agua de mar traída del exterior para renovar la de los cultivos tenía una temperatura de 11,5° C a 12° C, se esperaba, antes de emplearla, que adquiriera dentro del laboratorio, la temperatura a que se encontraban las larvas. Sin embargo, se vió que una diferencia de 1° más o menos no las afectaba.

No se hicieron experiencias para determinar qué variaciones límites de temperatura podían soportar las larvas, pues el objeto era llegar a la metamorfosis con el mayor número posible de individuos, y se trató de evitar, en todo momento, ponerlas en condiciones que se suponían peligrosas.

En cuanto al agua empleada, hay que señalar que no fue necesario buscarla lejos de la costa como se indica generalmente; el agua de la orilla del roquerío de la Estación, muy aireada, cumplió con las condiciones necesarias para mantener bien los cultivos.

Para proveer de alimento a las larvas se aprovechó la gran cantidad de diatomeas bentónicas que se encuentran adheridas a la rodoficea *Bangia vermicularis*, abundante en las pequeñas pozas que hay entre las rocas en Montemar. Para utilizar las diatomeas, se agitaban y se exprimían las algas hasta que el agua tomaba un color café amarillento, y luego se la colaba en una tela tupida que permitía el paso de las diatomeas y pequeños protozoos, reteniendo, al mismo tiempo, la arena, los restos de algas, y los animales de

mayor tamaño. Este filtrado se agregaba al agua de los vasos con las larvas hasta que se pusiese ligeramente opaca.

Cada día se usó material fresco recién colectado. Además, se aprovechó una que otra vez el abundante fitoplancton que se presenta en los meses de Octubre y Noviembre, frente a Montemar, rico en diatomeas, particularmente de los géneros *Chaetoceras*, *Thalassiosira*, *Nitzschia* y *Coscinodiscus*.

El problema de mantener las larvas se dificulta los primeros días, porque la pequeñez de los individuos impide que puedan ser trasladados al agua fresca con una pipeta. El sistema de usar un sifón con un filtro fino, para extraer el agua y renovarla, presenta algunos inconvenientes; desde luego, no es posible retirar del fondo los materiales de desecho (larvas muertas, etc.), que muy pronto vician el cultivo y, por otra parte, las larvas arrastradas por la corriente forman un enjambre alrededor del filtro terminando por impedir el paso del agua.

Para superar estos inconvenientes se pasaron las larvas de 24 horas a depósitos de 10 litros de capacidad, llenos sólo en una quinta parte. Diariamente se les agregó agua fresca para mantener la oxigenación hasta que los depósitos al cabo de 5 días se colmaron. Durante este período las larvas ya habían adquirido el tamaño suficiente para ser trasladadas con pipetas. Se usó sifón sólo para limpiar el fondo del recipiente. Las larvas se conservaron desde entonces en 9 vasos de 350 cc. de capacidad con una altura de 15 cm. El uso de estos pequeños vasos es ventajoso, porque son muy manuales y facilitan la captura de las larvas con pipeta, operación que se hacía diariamente para cambiarlas de agua, y fuera de esto, porque pueden ser colocados dentro del agua, hasta cerca del borde, en los acuarios de los laboratorios para mantener una temperatura uniforme.

Es curioso observar que las larvas, a poco de ser cambiadas de agua o al agregárseles una cantidad apreciable de agua fresca, se agrupan en el centro del depósito que las contiene, formando, desde la superficie del agua, un cono de vértice inferior. Después de algunas horas el cono se deshace y las larvas se esparcen. Esta disposición se aprovechaba para lograr una captura de larvas con poco trabajo.

Poco a poco se fue seleccionando las larvas más desarrolladas, hasta dejar, a los 20 días, solamente 100 larvas en cada vaso, cantidad que disminuyó considerablemente por la muerte de los ejemplares que hubo que sacrificar en el estudio.

3.—GAMETOS

Los ovios son esféricos y pequeños, de 120μ más o menos. Son opalescentes cuando se observan aislados, pero en conjunto ofrecen un color amarillento semejante al de las gónadas; su núcleo mide $14,8\mu$ de diámetro. Los ovios inmaduros tienen un núcleo que alcan-

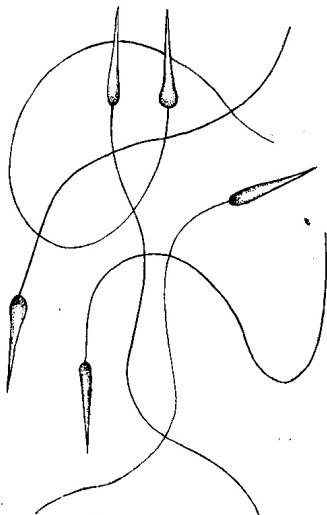


FIGURA 1.—Espermios vistos de frente y de perfil.

za a $59,4\mu$, y se observa en él, además, un gran nucléolo que presenta un punto más refringente en su interior. En algunos ovios encontramos una envoltura mucilaginosa que es atravesada sin dificultad por los espermios en el momento de la fecundación.

Los espermios tienen una cabeza muy aguzada de 10μ de largo, la cola nace de la base de ella y mide 44μ (Fig. 1).

4.—FECUNDACION Y EMBRIOGENESIS

La fecundación se produce rápidamente. Un minuto después de agregarse espermios al agua en que se encuentran los ovios, comienza a separarse en éstos la membrana de fecundación que se mantiene unas 14 horas. Hasta el estado ocho, los blastómetros son iguales; pero no fue posible determinar si ulteriormente existían o no diferencias de tamaño en las células.

Los períodos de tiempo entre una y otra fase de la segmentación del huevo no fueron constantes en las numerosas fecundaciones que se hicieron, pues hubo ligeras variaciones debido, posiblemente, a que no existieron en todos los casos las mismas condiciones de ambiente.

A continuación damos los tiempos de una fecundación efectuada el 30 de Octubre de 1956 en agua de 14° C y que puede tomarse como base.

Estado	2	1 hora	45 minutos,	después de la fecund.
„	4	2 horas	20 „	„ „ „ „
„	8	3 „	00 „	„ „ „ „
„	16	4 „	00 „	„ „ „ „

Aproximadamente, 7 horas después de la fecundación se inicia la formación del blastocelo y unas 7 horas más tarde, se observa un ligero movimiento rotatorio de la blástula dentro de la membrana de fecundación, la que luego se rompe produciéndose la salida del embrión que se pone a girar por medio de sus cilios.

Poco a poco las larvas van dejando el fondo del recipiente, y giran alrededor de su eje desplazándose con rapidez en el agua.

Como en esta etapa son muy transparentes, puede verse, al cabo de 16 horas de la fecundación en el interior del blastocelo, en el polo vegetativo, un grupo de células que constituye el primer indicio del mesenquima primario (Lám. I, fig. 7). En medio de ellas se perfila poco después, al comenzar la formación de la gástrula por invaginación, el esbozo del arquéteron en forma de una cúpula (Lám. I, fig. 8).

Las células del mesenquima van separándose poco a poco en dos grupos opuestos que toman forma piramidal y que se adosan al ectoblasto quedando libre el arquéteron en el centro del blastocelo.

Exteriormente en este estado de desarrollo, que se presenta alrededor de las 24 horas, las gástrulas son ligeramente ovoides, miden 168μ en su eje mayor y rotan avanzando con el polo apical dirigido hacia adelante; en éste se destaca un manojo de cilios largos. Poco después se observan variaciones morfológicas notables, la larva toma forma cónica debido a que el polo vegetativo se aplanando formando una superficie que constituirá la cara ventral y anterior del equinoplúteo. El blastoporo que queda situado en su centro formará el ano de la larva. El arquenteron se va desarrollando desde la cara ventral hacia la cara dorsal, desde donde se incurva hacia arriba hasta alcanzar el polo apical (Lám. I, fig. 10). En el extremo distal del arquenteron se observa una proliferación de células que originarán el mesenquima secundario.

A cada lado de la base del arquenteron aparecen los primeros esbozos de las espículas, entre las células del mesenquima primario. Su primer aspecto es el de un acento circunflejo, que poco después se complica, con la aparición de una nueva punta, tomando la forma de una estrella trirradiada.

Poco después se observa que el extremo del arquenteron se ensancha y comienzan a desarrollarse dos vesículas, una a cada lado, que constituyen el origen del celoma.

A medida que progresa el desarrollo, la larva va presentando superficies planas bien delimitadas que le dan, a las 30 horas, el aspecto de un tetraedroide. Entre estas superficies, es fácil distinguir la cara ventral en posición anterior, que se muestra como una superficie triangular con el ano en el centro, y también la cara oral en posición superior que, a medida que va creciendo el esqueleto, desarrolla en su parte posterior, una pared que sobresale de ella y que constituye el lóbulo oral.

Al poco tiempo, se produce en el centro del lóbulo oral una invaginación en forma de una V, cuyo borde está recorrido por una banda ciliada denominada banda adoral, invaginación que al tercer día se unirá al arquenteron dando origen a la boca. Por este mismo tiempo, el crecimiento del esqueleto produce la formación de los brazos post-orales, en los vértices superiores de la cara ventral.

A las 45 horas el arquenteron muestra dos estrangulaciones que lo diferencian en porciones que constituirán el esófago, el estómago y el intestino. La porción central, que es la más abultada, corresponde al estómago; la superior, que es tubular, corresponde

al esófago; poco después se observa que en la estrangulación que separa el estómago del esófago se forma un esfínter.

En el extremo distal del esófago se observan las dos vesículas celómicas que son pequeñas en relación al conjunto del tubo digestivo, y que parecen dos sacos que se alargan hacia abajo, adheridos a ambos lados del esófago. El intestino es angosto y corto, y termina en el ano que está rodeado de cilios largos.

A las 48 horas la larva come, lo que demuestra que ya se ha completado el tubo digestivo por la unión del esófago con la invaginación del lóbulo oral.

En el lóbulo oral, sobre el borde superior de la invaginación bucal, se produce una protuberancia que se ha denominado lóbulo pre-oral.

También aparece, alrededor de las 48 horas, el pigmento en forma de un retículo constituido por filas irregulares de pequeños puntos rojos que se extienden por toda la superficie del cuerpo. Posteriormente estos puntos se agrupan en gránulos más grandes y se concentran en los extremos de los brazos post-orales, y alrededor de una banda ciliada que recorre ahora todo el borde de la cara oral, siguiendo el contorno de los brazos, y que después, a las 66 horas más o menos, se observa como un cordón grueso provisto de grandes cilios.

5.—DESARROLLO DEL ESQUELETO LARVAL

Las espículas que constituyen las estrellas trirradiadas de las cuales hablamos anteriormente, dan lugar, prolongándose, a tres varillas que formarán lo que se denomina *esqueleto del cuerpo*. Ellas son: una *varilla del cuerpo* (body rod), una *transverso-ventral* (ventral transversal rod) y una *recurrente* (recurrent rod) (*).

En el esqueleto de una larva de 38 horas (Lám. III, fig. 1), las varillas transverso-ventrales de ambas estrellas trirradiadas se fusionan en la parte central y superior de la cara ventral, formando una nodosidad en el lugar de unión; las varillas del cuerpo se dirigen hacia el vértice inferior, y las recurrentes, hacia atrás incurvándose hasta alcanzar también el vértice inferior de la larva.

(*) Para describir la larva equinoplúteo hemos tomado, en su mayor parte, los términos establecidos por Th. Mortensen, y se ha mantenido para algunos de ellos la traducción empleada por I. Bernasconi (1).

En el punto en que las varillas recurrentes se doblan, se desarrolla, en cada una y hacia arriba, un proceso que corresponde a la varilla del brazo antero-lateral, pero que en este momento sólo sirve para sostener el lóbulo oral desde el cual crecerán los brazos alrededor de las 51 horas.

Antes del desarrollo de las varillas que constituyen el esqueleto, se observan hileras de células mesenquimáticas que ocupan el lugar que más tarde corresponderá a aquéllas.

En el punto de convergencia de las tres varillas de la antigua estrella trirradiada, se desarrollan procesos, uno desde cada varilla, que dan origen al esqueleto de los brazos postorales. Estos procesos se prolongan y se unen entre sí de trecho en trecho formando eslabones que dan a las varillas aspecto fenestrado.

El esqueleto es espinoso, siendo esta característica variable en las diferentes larvas.

En el esqueleto de una larva de 51 horas (Lám. III, fig. 2) puede apreciarse, además del desarrollo de las varillas antero-laterales, el crecimiento que ha experimentado la parte basal. Las *varillas del cuerpo* han desarrollado en su parte posterior procesos que las unen entre sí, observándose, además, la formación de otros procesos que van desde ellas hacia las varillas recurrentes, al encuentro de prolongaciones nacidas del extremo de éstas.

Entre el tercero y cuarto días la larva asume la forma completa del equinoplúteo en su primer estado (*).

En el esqueleto de una larva de tres días (Lám. III, fig. 3) puede apreciarse la longitud que han alcanzado las varillas postorales y antero-laterales. Las postorales divergen hacia afuera en su extremidad distal y ya no se distinguen tan claramente como en la larva de 51 horas, los eslabones que producen la fenestración; sólo se observa una sucesión de perforaciones más o menos regulares. Sin embargo, en su extremo aparecen tres puntas que corresponden a los tres procesos que las integran.

Las varillas antero-laterales se curvan primeramente hacia adentro y luego continúan paralelas hacia arriba; son delgadas y su extremo distal se afina hasta terminar en una punta aguda.

(*) Queremos recordar que Th. Mortensen distingue en el equinoplúteo dos estados. El primer estado con sólo dos pares de brazos, los post-orales y los antero-laterales, y el segundo, con el número completo de brazos.

En el extremo inferior del esqueleto las varillas del cuerpo y las recurrentes ya se han unido. También se han unido entre sí ambas varillas recurrentes por procesos desarrollados desde sus extremos.

El esqueleto del cuerpo presenta claramente, en este primer estado la denominada *estructura de cesto*. Esta permanece completa durante corto tiempo, pues casi al momento de completarse la unión de las diversas partes del esqueleto del cuerpo, al cuarto día, comienza a desaparecer la unión de las varillas transverso ventrales que van reabsorbiéndose poco a poco. A esto sigue, al sexto día, el comienzo de la reabsorción de los travesaños que unen la parte inferior de las varillas del cuerpo entre sí, y también los que unen las varillas recurrentes, permaneciendo sólo la unión entre las varillas recurrentes y las varillas del cuerpo. De este modo el esqueleto queda separado en dos partes simétricamente iguales (Lám. III, fig. 4). Esta nueva estructura permite cierta movilidad a los brazos de la larva, pudiéndose observar ligeros movimientos de aducción y abducción en ellos; un pliegue momentáneo se forma en el dorso al efectuar el primero de estos movimientos.

A los siete días aparecen tres nuevos puntos de calcificación que originan el denominado *arco dorsal* y las varillas de los brazos *postero-dorsales*. Estas varillas son fenestradas; partiendo de espículas trirradiadas, se desarrollan de igual manera que las varillas de los brazos post-orales que describimos con anterioridad.

Exteriormente, a los siete días, la larva muestra dos protuberancias sobre el lóbulo pre-oral que corresponden a la primera manifestación de los *brazos pre-orales*. Es interesante observar que, por el momento, no tienen esqueleto que los sostenga, ya que, como habíamos dicho, sólo en este momento aparece en la línea media dorsal, al nivel del esfínter del esófago, la espícula que origina el *arco dorsal*, cuyas prolongaciones formarán el esqueleto de estos brazos que son alcanzados por ellas sólo al duodécimo día.

Al noveno día aparece el último punto de calcificación, en el polo posterior, correspondiente a la *varilla transversal posterior*. En el esqueleto de una larva de diez días (Lám. IV, fig. 1) puede verse muy bien la mencionada varilla transversal posterior, y apreciar, además, el desarrollo de los brazos *póstero-dorsales*. Las varillas transverso-ventrales se han reabsorbido completamente; pero, hay todavía restos de la unión de las varillas corporales entre sí y de

las recurrentes, y comienza ya en uno de los lados la reabsorción de los travesaños que unen las varillas del cuerpo con las recurrentes.

A los dieciséis días (Lám. IV, figs. 2 y 3), la reabsorción de la parte basal del esqueleto ha dejado libres de uniones los brazos post-orales y ántero laterales que adquieren, de este modo, gran movilidad. En esta etapa es notable el gran cúmulo de pigmento en la zona de reabsorción. En el arco dorsal, a ambos lados, en la iniciación de la porción recta de las varillas de los brazos pre-orales, se ha desarrollado una pequeña rama lateral. La varilla transversal posterior está ahora desarrollada de manera que atraviesa de parte a parte el polo inferior de la larva; no tiene sus extremos bifurcados y ya, a los 17 días, muestra signos de reabsorción, presentándose también en relación con esto, la gran acumulación de pigmento ya indicada.

Las espículas de todos los brazos se han desarrollado considerablemente, pero en el extremo de los post-orales y póstero-dorsales no ha continuado la fenestración, sino que las varillas que los forman crecen paralelamente sin unirse.

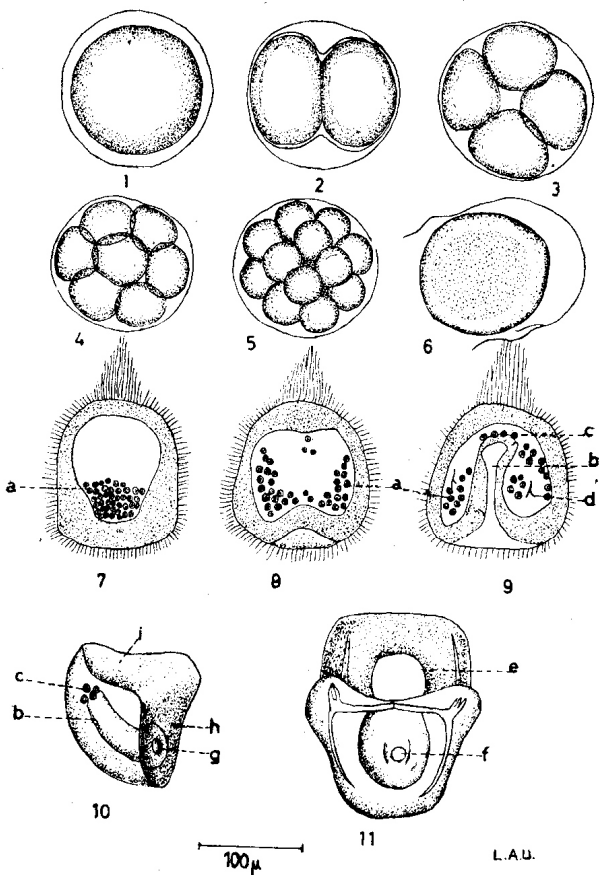
6.—DESARROLLO DE LA MORFOLOGIA EXTERNA

Consideraremos a continuación las modificaciones que experimenta la larva en su morfología externa.

En el estado I (Lám. II, fig. 1) el aparato locomotor está constituido por la banda ciliada, que sigue el contorno de los brazos; y cuyos cilios son más visibles en la porción anterior, en los costados y en el extremo de los brazos que en el resto de ella. En esta etapa el contorno es sencillo, pero luego se complica al desarrollarse los lóbulos dorsales, laterales y ventrales, y al adquirir su mayor desarrollo el lóbulo pre-oral, que crece encima de la cavidad bucal formando como una visera sobre ella. El lóbulo pre-oral posee bastante movilidad, pues la larva lo proyecta y dobla hacia adelante con facilidad, como se observó en ejemplares de catorce días.

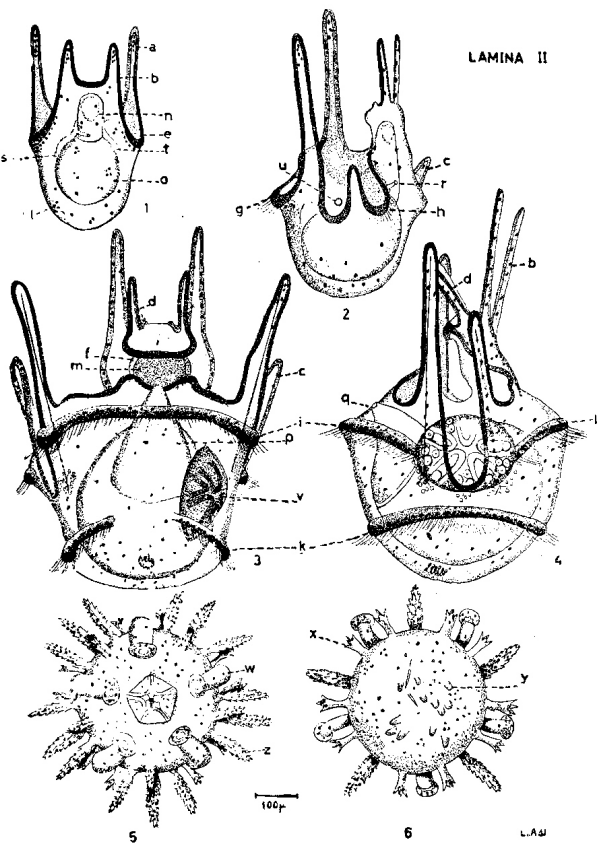
Al noveno día aparecen nuevos órganos de locomoción, los denominados *épaulettes anteriores* (*), que comienzan a destacarse por parejas, adelante y atrás, en la banda ciliada; las ventrales en la base de los brazos post-orales, y las dorsales en el repliegue que se forma entre los brazos póstero-dorsales y los ántero-laterales.

(*) Seguimos aquí la denominación usual ya que la traducción literal de la palabra en español no nos parece apropiada.



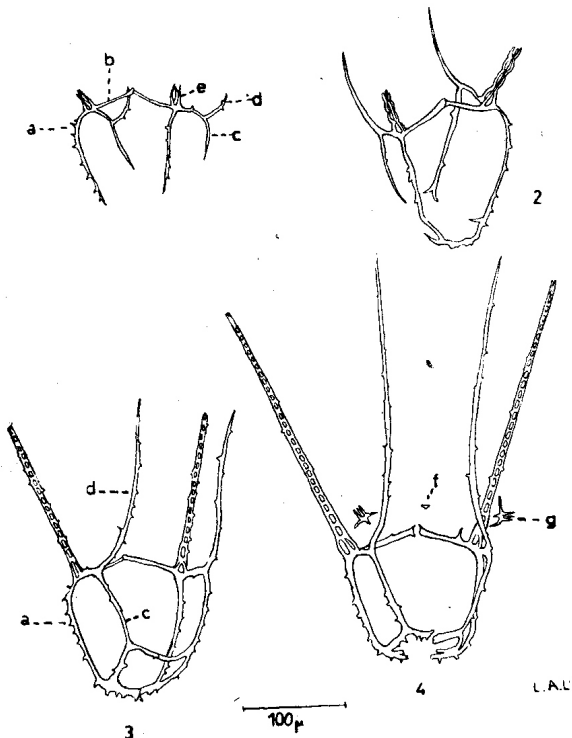
LOXECHINUS ALBUS (Mol.)

FIGURAS: 1. Huevo con membrana de fecundación. — 2. Primera segmentación — 3. Estado cuatro. — 4. Estado ocho. — 5. Estado dieciséis. — 6. Blástula rompiendo la membrana de fecundación, 14,30 horas después de la fecundación. — 7. Blástula de 16 horas. Corte óptico. — 8. Comienzo de la gastrulación, 24 horas después de la fecundación. Corte óptico. — 9. Larva de treinta horas. Corte óptico. — 10. Larva de treinta horas. Vista lateral. — 11. Larva de 45 horas. — a) Mesénquima primario. b) Arquenterón. c) Mesénquima secundario. d) Espícula calcárea. e) Invaginación bucal. f) Anq. g) Blastóporo. h) Cara ventral. i) Cara oral.



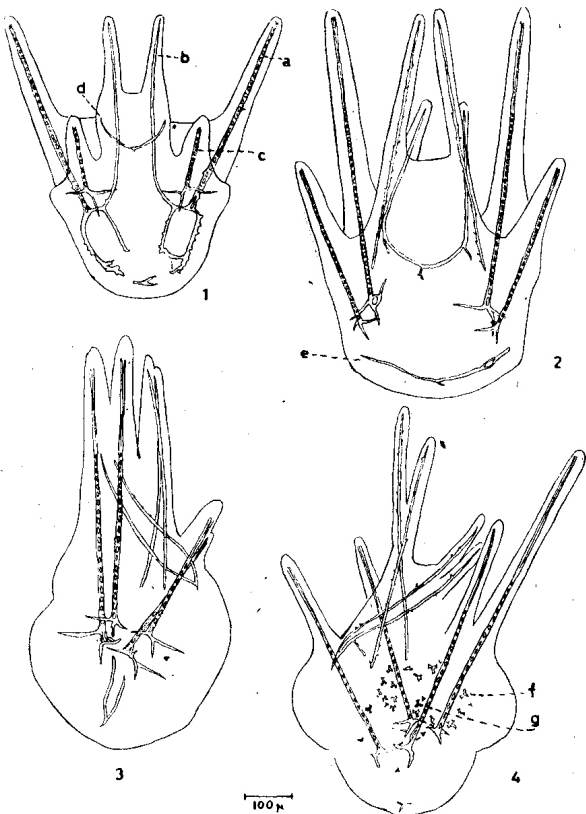
LOXECHINUS ALBUS (Mol.)

FIGURAS: 1. Equinoplúteo de 6 días de edad. Vista dorsal. — 2. Equinoplúteo de 10 días de edad. Vista lateral. — 3. Equinoplúteo de 22 días de edad. Vista frontal. — 4. Equinoplúteo de 22 días de edad. Vista lateral. — 5. *Loxechinus albus* de 26 días de edad. Vista oral. — 6. *Loxechinus albus* recién metamorfoseado. Vista aboral. — a) Brazo post-oral. b) Brazo ántero-lateral. c) Brazo pósterio-dorsal. d) Brazo pre-oral. e) Banda ciliada. f) Banda ciliada adoral. g) Epaulette anterior ventral. Comienzo de su formación. h) Epaulette anterior dorsal. Comienzo de su formación. i) Epaulette anterior ventral. j) Epaulette anterior dorsal. k) Epaulette posterior. l) Grúmulos de pigmento. m) Beca de la larva. n) Esófago. o) Estómago. p) Intestino. q) Ano. r) Hidróporo. s) Celcma izquierdo. t) Celoma derecho. u) Invaginación amniótica. v) Esbozo equiniano. w) Tentáculo terminal primario. x) Espina juvenil. y) Espina juvenil en formación. z) Espinas adultas.



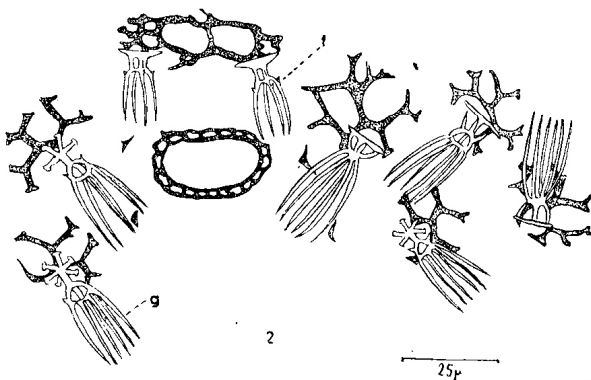
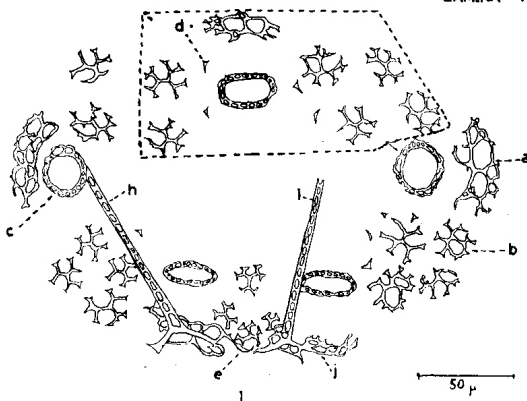
LOXECHINUS ALBUS (Mol.)

FIGURAS: 1. Esqueleto de una larva de 38 horas. Vista ventral. — 2. Esqueleto de una larva de 51 horas. Vista ventral. — 3. Esqueleto de una larva de 3 días. Vista dorsal. — 4. Esqueleto de una larva de 7 días. Vista dorsal. — a) Varilla del cuerpo. b) Varilla transverso-ventral. c) Varilla recurrente izquierda. d) Varilla del brazo ántero-lateral izquierdo. e) Origen del brazo post-oral izquierdo. f) Origen del arco dorsal. g) Origen del brazo póstero-dorsal derecho.



LOXECHINUS ALBUS (Mol.)

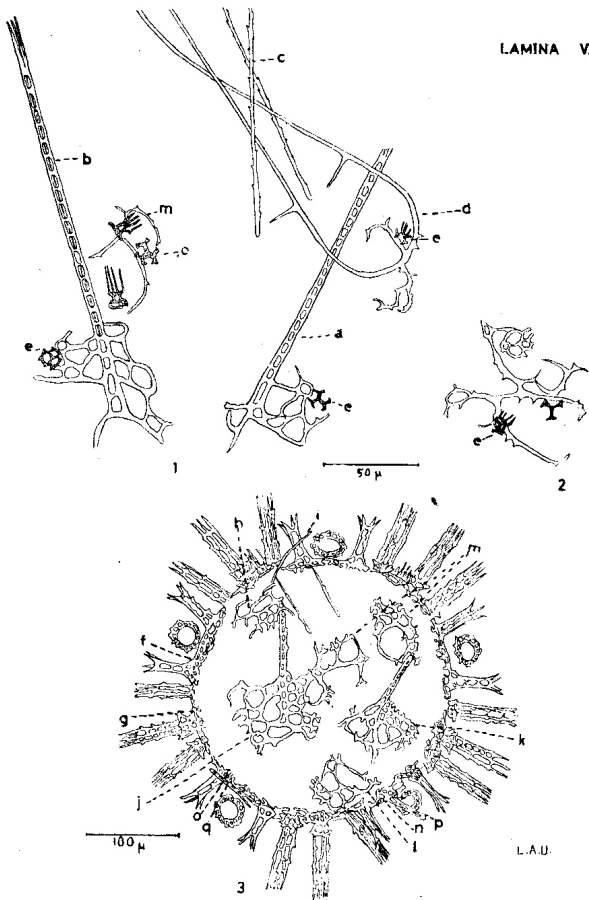
FIGURAS: 1. Esqueleto de una larva de 10 días. Vista dorsal. — 2. Esqueleto de una larva de 16 días. Vista dorsal. — 3. Esqueleto de una larva de 16 días. Vista lateral. — 4. Esqueleto de una larva de 23 días. Vista lateral. — a) Varilla de brazo post-oral derecho. b) Varilla del brazo ántero-lateral derecho. — c) Varilla del brazo póstero-dorsal derecho. d) Arco dorsal. e) Varilla transversal posterior. f) Puntos de calcificación del esbozo echiniano. g) Puntos de calcificación del lado derecho de la larva.



L.A.U.

LOXECHINUS ALBUS (Mol.)

FIGURAS: 1. Calcificación en el lado derecho. Vista, a través de la larva, desde el lado izquierdo. — 2. Calcificación en la varilla transversal posterior. Vista, a través de la larva, desde el polo superior. — 3. Disposición de las placas en el lado aboral de un erizo poco después de su metamorfosis. — a) Brazo pósterodorsal derecho. b) Brazo post-oral derecho. — c) Brazos ántero-laterales. — d) Arco dorsal. e) Formación de espinas juveniles. f) Placa terminal. g) Placa interambulacral. h) Placa genital derivada del arco dorsal. i) Resto del arco dorsal. j) Placa genital derivada del brazo pósterodorsal derecho. k) Placa genital derivada del brazo post-oral derecho. l) Placa genital derivada de la varilla transversal posterior. m) Calcificaciones que pueden ser el origen de una placa genital. n) Placa terminal derivada del brazo post-oral izquierdo. o) Placa terminal derivada del brazo pósterodorsal izquierdo. p) Resto del brazo post-oral izquierdo. q) Resto del brazo pósterodorsal izquierdo.



LOXECHINUS ALBUS (Mol.)

FIGURAS: 1. Calcificación en el esbozo equiniano. Se han suprimido las espinas para la mejor claridad del dibujo. — 2. Ampliación de la parte delimitada en la fig. 1, con las espinas correspondientes. — a) Placa terminal. b) Placa interambulacral. c) Anillo de un tentáculo terminal primario. d) Espículas que originarán nuevas placas. e) Placa terminal originada del brazo post-oral izquierdo. f) Espina juvenil. g) Espina adulta. h) Brazo post-oral izquierdo. i) Brazo pósterodorsal izquierdo. j) Placa terminal originada del brazo pósterodorsal izquierdo.

Uteriormente, las *épaulettes* se separan de la banda ciliada y se prolongan transversalmente; alrededor de los 19 días, terminan por unirse, por un lado las dorsales y por otro las ventrales, formando de este modo, dos cordones continuos.

Al décimotercer día, habían aparecido a ambos lados, entre los brazos post-orales y póstero-dorsales, las *épaulettes* posteriores

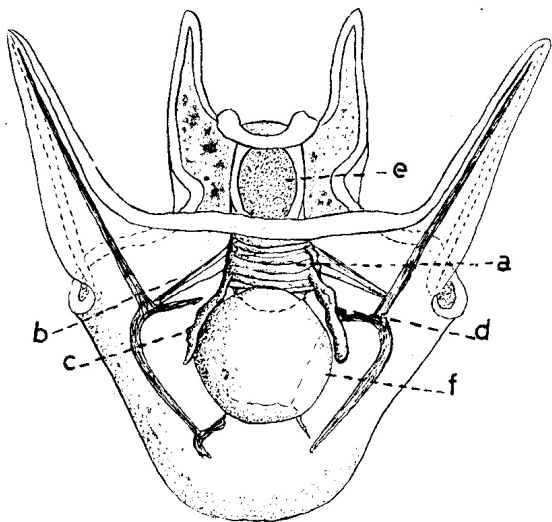


FIGURA 2.—Equinoplúteo de seis días, vista ventral: a) bandas musculares esofágicas, b) bridas, c) y d) vesículas celómicas, e) esófago, f) estómago.

que en seguida se extienden y terminan por formar un anillo continuo alrededor del polo posterior.

Las *épaulettes*, provistas de grandes cilios, desempeñan el papel de órganos de locomoción; por medio de ellas las larvas son capaces de desplazarse más o menos rápidamente, pero, pese a ello, se las ve, por lo general, suspendidas y casi inmóviles cerca de la superficie del agua.

Las larvas en el estado II (Lám. II, figs. 3 y 4) con sus cuatro pares de brazos y sus *épaulettes* son muy hermosas, el cuerpo es transparente y los gránulos de pigmento rojo están repartidos en toda su superficie dando la impresión de pequeños rubíes incrustados en el ectoderma. Estos gránulos de pigmento se agrupan especialmente en los extremos de los brazos, en el polo posterior y a lo largo de las *épaulettes* donde forman hileras en la base de los cilios.

Es posible que los gránulos de pigmentos se desprendan de la larva, pues se tuvo oportunidad de ver uno en el momento de hacerlo.

La transparencia de la larva permite observar el desarrollo de los órganos internos y el funcionamiento y la estructura del tubo digestivo.

El esófago es ciliado y los cilios disminuyen hacia el esfínter que lo separa del estómago. Este esfínter se abre con los movimientos esofágicos que pueden compararse a movimientos de deglución.

De uno a otro saco celómico pasa, por la parte ventral del esófago, una banda muscular, cuyas vivas contracciones modifican constantemente la forma de éste (Fig. 2). Esta banda muscular va extendiéndose progresivamente hacia atrás, hasta rodear completamente el esófago alrededor de los 21 días. Existen, además, entre el esófago y la base de los brazos post-orales algunas bridas que contribuyen a los movimientos de estas estructuras.

Hay también un esfínter entre el estómago y el intestino. Las paredes del estómago se ven gruesas, en cambio, las del intestino que están provistas de cilios como el esófago, se ven delgadas y flácidas.

7.—DESARROLLO DEL CELOMA

Desde su formación, las vesículas celómicas han ido alargándose hacia el polo posterior de la larva, siendo en un comienzo la vesícula izquierda algo más larga que la derecha.

Al sexto día, desde la porción superior de la vesícula izquierda, va desarrollándose hacia atrás una formación tubulosa, el *canal acuífero* que contornea el esófago, inmediatamente por encima del estómago (Fig. 3).

A pesar de las cuidadosas observaciones que se hicieron, sólo al décimo día se encontró vestigios del *hidroporo* en la región dorsal, más exactamente en el extremo posterior del pequeño espolón del

arco dorsal. Al décimo primer día puede afirmarse positivamente que el canal acuífero se abría al exterior en el hidroporo.

El canal acuífero y el hidroporo se observan con toda claridad si se mira la larva desde arriba.

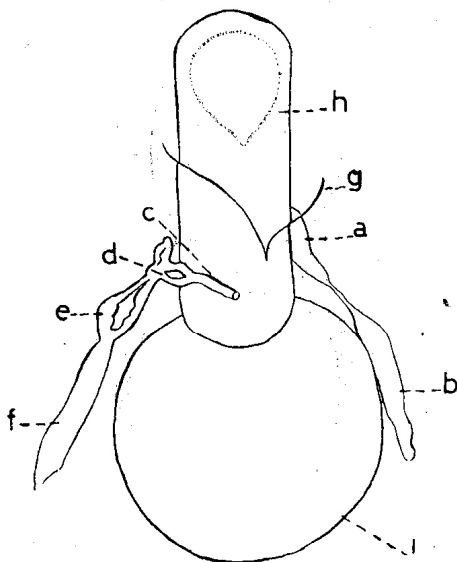


FIGURA 3.—Esquema del desarrollo del celoma, vista ventral; larva de ocho días: a) celoma anterior de la vesícula derecha, b) celoma posterior de la misma, c) canal acuífero, d) ampolla, e) hidrocelo, f) celoma posterior de la vesícula izquierda, g) borde de los brazos post-orales, h) boca.

El hidroporo tiene una posición ligeramente oblicua, por lo que puede observarse también, sin dificultad, si se coloca la larva sobre la cara aboral, pero ligeramente rotada hacia el costado izquierdo. Así el hidroporo se ve con sus bordes gruesos y con un lumen bien manifiesto. En esta posición se vislumbra al lado de él, otra

formación que parece ser un grupo de células diferenciadas. Colocando la larva sobre la cara aboral, pero no oblicua como antes, esta estructura queda en un plano inferior con respecto al hidroporo, pero en el mismo eje. Podría corresponder a la vesícula madre-pórica, descrita por Mac Bride, de la que no fue posible seguir la evolución.

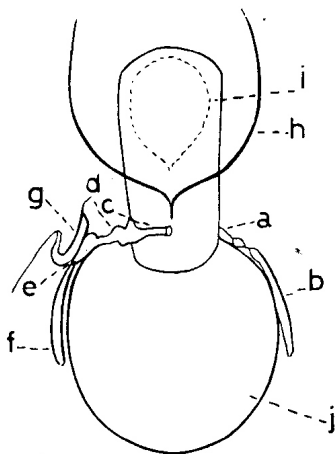


FIGURA 4.—Esquema del desarrollo del celoma, vista ventral, larva de trece días: a) celoma anterior derecho, b) celoma posterior derecho, c) canal acuífero, d) ampolla, e) hidrocelo, f) celoma posterior izquierdo, g) invaginación vestibular, h) borde de los brazos post-orales, i) boca, j) estómago.

Al mismo tiempo que va desarrollándose el canal acuífero, entre el sexto y séptimo día, la vesícula izquierda y la derecha presentan constricciones que las separan en *celoma anterior*, correspondiente a la porción superior, y *celoma posterior*, correspondiente a la inferior.

La división en celoma anterior y posterior derecho e izquierdo respectivamente, es muy evidente. Sin embargo, no se pudo determinar si existía una separación efectiva de ellos, pues se percibían

entre ambos algunas ligaduras que los mantenían unidos. Esto se confirmaría por el hecho de que al contraerse el esófago, las uniones que van desde él al hidrócelo hacen que éste se mueva, y su movimiento se transmite al celoma posterior como por una tracción. Esto es más notorio entre el celoma anterior y posterior del lado derecho (Fig. 4).

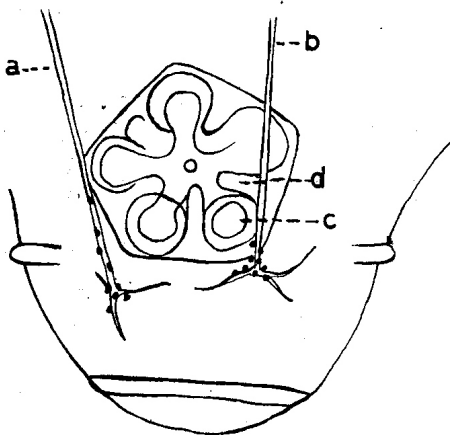


FIGURA 5. —Esquema del desarrollo del esbozo echiniano en una larva de diecisiete días: a) Brazo post-oral izquierdo, b) brazo póstero-lateral izquierdo, c) tentáculos terminales primarios, d) crestas epineurales.

Al octavo día, los sacos celómicos se alargan hacia el polo posterior hasta llegar a la parte media del estómago.

El celoma anterior izquierdo está diferenciado en el canal acuífero ya descrito y la ampolla y el hidrócelo. Estos dos últimos conectados por el denominado *canal petroso* (stone canal).

Al décimo día, la larva presenta la *invaginación amniótica* por sobre la banda ciliada, y entre la base de los brazos póstero dorsal y ántero lateral izquierdos.

El fondo de la invaginación tiene una pared muy gruesa que, más o menos a las 24 horas de iniciarse la invaginación, y con el aumento progresivo de ella, queda en contacto con el hidrocelo y se aplasta contra él. Al mismo tiempo, la abertura de la invaginación va estrechándose hasta cerrarse completamente al exterior formando la *cavidad amniótica*.

Las larvas tienen tendencia a inclinarse al lado de la invaginación cuando se las coloca sobre el porta objeto para ser examinadas.

A los trece días empiezan a percibirse en el hidrocelo 5 lóbulos. El conjunto del hidrocelo con el fondo de la cavidad amniótica aplicada contra él se denomina *disco oral* y va evolucionando hasta tomar, a los dieciséis días, forma de un pentágono.

A los diecisiete días se observan los cinco *tentáculos terminales primarios* que hacen eminencia en la cavidad amniótica, y poco después, las *crestas epineurales* (Fig. 5). Ya por entonces, los celomas, posteriores derecho e izquierdo están casi en contacto en el polo posterior de la larva.

En cuanto se refiere al comportamiento, desde los 20 días las larvas tienen tendencia a permanecer en el fondo de los vasos, levantándose por breve tiempo cuando se cambia el agua o se las estimula.

A veintidós días el *esbozo equiniano* ocupa gran parte del costado izquierdo de la larva y hace presión contra el estómago que se presenta aplanado -ventro dorsalmente y desde el lado izquierdo al derecho. El estómago ha tomado un color verdoso y aparece plegado en algunas zonas. Toda la pared anterior del estómago, por sobre el esfínter que los comunica con el intestino, se ha engrosado notablemente y presenta un aspecto pedregoso.

8.—METAMORFOSIS

En las larvas próximas a la metamorfosis se observa una rápida reabsorción de los brazos y del lóbulo oral. Las larvas se achican considerablemente, no sólo por el acortamiento de los brazos, sino también por una reducción de todo su contorno. Por este tiempo, todavía pueden nadar a gran velocidad mediante los cilios de las *épaulettes*.

Los brazos larvales van reabsorbiéndose con sus espículas; pero en algunos casos se observó que sólo los tejidos blandos se reabsorbían y que las espículas desnudas se quebraban y eran eliminadas.

Se ve claramente que la superficie oral del erizo deriva del lado izquierdo de la larva, o sea del esbozo echiniano, y que la superficie aboral deriva del lado derecho, del polo posterior y del dorso de la larva; lugares donde comienzan a formarse las placas genitales.

Dentro de la cavidad amniótica vemos moverse los cinco tentáculos terminales primarios que al producirse la ruptura del techo de ésta, emergen al exterior y por medio de ellos, puede caminar el pequeño erizo que aún lleva las épaulettes y restos de brazos.

La metamorfosis no se produce al mismo tiempo en todas las larvas sino que día a día, desde el vigésimo tercero en que se realizó en las más precoces, hasta el trigésimo octavo día, fueron apareciendo nuevos ejemplares metamorfoseados.

Solamente una cuarta parte de las larvas alcanzó la metamorfosis. Las restantes se estacionaron y no presentaron señales de evolución hasta que el cabo de dos meses fueron abandonadas.

9.—DESARROLLO DE LAS PRIMERAS PLACAS Y ESPINAS

Antes de la metamorfosis, a los dieciocho días, se observan los primeros signos de calcificación del futuro erizo, determinados por grupos de células que se aglomeran en la base de los brazos post-oral y póstero-dorsal derechos, en la varilla transversal posterior y también alrededor del esbozo echiniano.

A medida que aumenta la reabsorción de la base de los brazos y de la varilla transversal posterior se ve aumentar estos acúmulos de células en dichos lugares.

Es indudable que el material de las espículas que se reabsorbe participa en la formación del nuevo esqueleto. En general, durante todo el desarrollo, se observó que la aparición de nuevos puntos de calcificación era precedida por reabsorción de partes esqueléticas anteriormente formadas, como si existiera una relación de causa y efecto.

A los veintiún días la varilla transversal posterior está muy reducida y empieza a formarse del resto de ella, una placa esquelética que sirve de base a las *espinas juveniles*. Estas emergen de una depresión que se observa, exteriormente, en el polo posterior de la larva.

La mayoría de las larvas presentan tres espinas en su polo posterior, sin embargo, hay algunas que sólo tienen una, y otras poseen cuatro y hasta cinco. Como se advierte aquí, en el echino-

pluteus de *Loxechinus albus* no son los pedicelarios los primeros en aparecer, sino las espinas juveniles.

A los veintitrés días aparecen, al lado izquierdo, en el esbozo echiniano, espículas que darán origen a nuevas formaciones esque-léticas. También al lado derecho surgen algunos puntos de calcifi-cación (Lám. IV, fig. 4) y poco después, se forma un retículo calcáreo en el arco dorsal.

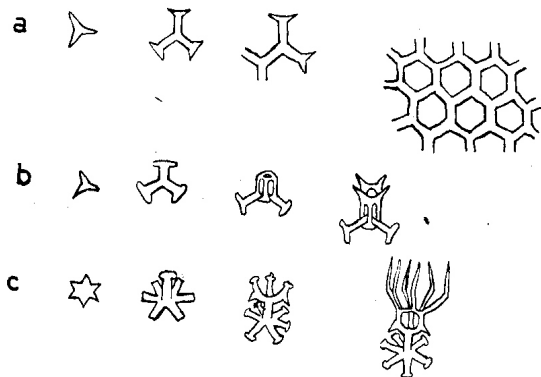


FIGURA 6.—Esquema de los primeros estados del desarrollo de las placas y espinas: a) desarrollo de una placa esquelética, b) desarrollo de una espina juvenil, c) desarrollo de una espina adulta.

En el esbozo echiniano los primeros puntos de calcificación han originado varias estructuras. En los tentáculos terminales primarios se ha formado un anillo calcáreo de una espícula trirradiada que, desarrollando dos de sus puntas, terminó por constituir un aro cerrado. Frente a los tentáculos, en el lado externo, aparecen las placas terminales de los ambulacros en forma de un retículo irregular, y entre los tentáculos, en los interradios, aparecen cuatro placas interambulacrales, en las cuales fue posible estudiar el desarrollo de las placas calcáreas. Estas se originan de una espícula trirradiada que se ramifica dicotómicamente y cuyas ramificaciones,

al unirse, dan un retículo de mallas hexagonales, en forma de panal de abeja. Posteriormente las mallas pierden su forma hexagonal, y se hacen irregularmente circulares (Fig. 6 a).

Es necesario establecer que dos de las placas terminales tienen su origen en los retículos formados en la base de las varillas de los brazos post-oral y póstero-dorsal izquierdos (Lám. V, fig. 1, c y j).

Todas las placas, tanto las terminales como las interambulacrales, sirven de base a las espinas que posee el pequeño erizo en el momento de la metamorfosis. Estas son de dos tipos: juveniles y adultas.

Encontramos dos espinas juveniles sobre cada placa terminal y una espina adulta sobre cada placa interambulacral.

El origen de las espinas juveniles y de las adultas es diferente. Las espinas juveniles se forman de una espícula trirradiada que aparece sobre la placa correspondiente y que da tres prolongaciones que forman un pie desde el cual parten hacia arriba cuatro ramas verticales que van uniéndose entre sí por cruzamientos (Fig. 6 b). Las espinas adultas se desarrollan de estrellas hexagonales y forman un pie desde el cual salen seis ramas verticales que se unen por cruzamientos como las juveniles (Fig. 6 c).

Poco a poco, se forma en las espinas un retículo muy fino y tupido revestido por un epitelio ciliado. Se observan muy bien los cilios, particularmente en la base de las espinas.

Las placas genitales se forman independientemente: del retículo de la base del brazo póstero-dorsal derecho, del retículo de la base del brazo post-oral derecho, de la calcificación de la base del arco dorsal y de la varilla transversal posterior. Parece ser que la placa genital restante se origina de un retículo que se forma entre los brazos post-oral y póstero-dorsal (Lám. VI, fig. 1 y 3 m). En un estado más avanzado hay en este lugar dos placas. No se determinó si esto se debía a alguna división de las placas ya existentes o a alguna nueva formación. Sobre todas estas placas se desarrollan espinas del tipo juvenil.

A los veintiséis días se puede observar, en el dorso de un erizo joven, el desarrollo de las diversas placas. Por los restos que quedan del esqueleto larval se puede precisar el origen de ellas (Lám. VI, fig. 2).

En el lado oral van apareciendo un par de placas ambulacrales en cada radio, diez placas bucales alrededor del centro y las espículas que darán origen a las piezas de la linterna (Fig. 7).

A los veintiocho días se mueven, bajo el retículo de las placas ambulacrales, un par de pies ambulacrales por cada radio los cuales salen al exterior poco después.

A los veintinueve días, ya se destacan las pirámides de la linterna bajo las placas bucales. El erizo todavía no tiene boca ni ano a pesar de lo cual se advierte un crecimiento evidente. Sólo a los treinta y nueve días se vió por primera vez la abertura de la boca y los dientes que asomaban por ella, y también nuevos pares de pies ambulacrales.

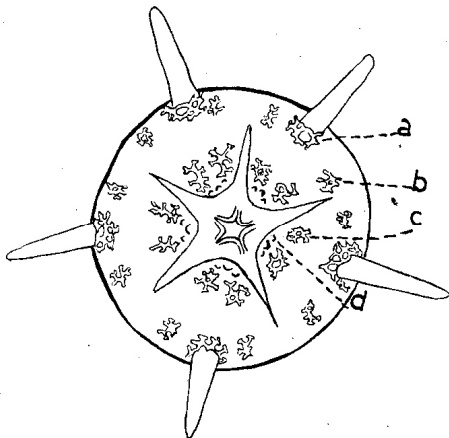


FIGURA 7.—Esquema del desarrollo en el lado oral: a) placa intreambulacral, b) placa ambulacral, c) placa bucal, d) espículas que dan origen a las piezas de la linterna.

A los treinta y tres días se observaron por primera vez dos pedicelarios, situados en puntos diametralmente opuestos y cinco esferidios, uno en cada radio, entre los primeros pares de pies ambulacrales.

Desde el momento en que los pequeños erizos adquirieron boca y ano se les trasladó para continuar su desarrollo, a cristalizadoras de diez litros de capacidad donde fueron colocados algunos sobre

algas (*Ulva lactuca*, *Glossophora Kunthii*), y otros sobre piedras, teniéndose gran cuidado de mantener una buena oxigenación y una escrupulosa limpieza de los depósitos.

10.—ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Después de sus propios e interesantes estudios sobre desarrollo larval y de los de Katsuzo Onoda (1936-38), Mortensen llega a la conclusión de que la larva puede dar caracteres de valor para la clasificación, e insiste en que hay una larva típica para las diferentes familias.

La larva tipo de la familia *Echinidae*, en la que está incluido el género *Loxechinus*, tiene los siguientes caracteres.

ESTADO I.

1. Varillas de cuerpo alargadas con sus extremos claviformes o algo ramificados.

2. Puede haber varillas recurrentes pequeñas, pero no se unen nunca en la parte posterior con las varillas del cuerpo para formar estructura de cesto.

ESTADO II.

1. No hay varilla transversal posterior.

2. Hay épaulettes desarrolladas, a lo menos en la base de los cuatro brazos principales; en algunas formas también hay épaulettes en el polo posterior de la larva.

3. Las varillas de los brazos principales parecen ser siempre sencillas, no fenestradas; sólo en *Sterechinus Neumayeri*, están compuestas de dos varillas paralelas, conectadas por algunas uniones escasas.

Con excepción de lo que se refiere a las épaulettes, ninguno de los caracteres anteriores corresponden a la larva de *Loxechinus albus* estudiada en este trabajo que presenta *estructura de cesto* en el estado I, *varilla transversal posterior* en el estado II y *varillas fenestradas* en los brazos post-orales y póstero-dorsales.

En cuanto al otro objetivo de nuestro trabajo que es estudiar la posibilidad de una equinicultura, sólo puede afirmarse que es posible llevar a cabo el desarrollo del erizo comestible partiendo

de la fecundación artificial; pero que mientras no se pueda experimentar en un medio natural para el que necesitamos viveros acondicionados, no se puede llegar a conclusiones más precisas, desde el punto de vista práctico.

BIBLIOGRAFIA

1. BERNASCONI, IRENE.
1942 Primeros estados larvales de *Arbacia dufresnei* (Blv.). Physis, t. XIX, pp. 305-312.
2. BURY, H.
1888 The early stages in the development of *Antedon rosacea*, Phil. Trans. Roy. Soc. vol. 179.
3. HYMAN, L. H.
1955 The Invertebrates. Echinodermata. Vol. IV, pp. 487-506.
4. MAC BRIDE, E. W.
1893 The Organogeny of *Asterina gibbosa*, Proc. Roy. Soc. London, vol. 54.
5. 1896 The Development of *Asterina gibbosa*. Quart. Journ. Micr. Sci., vol. 38.
6. 1899 The Development of Echinoids. Part. I. The Larvae of *Echinus miliaris* and *Echinus esculentus* Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 42.
7. 1900 Notes on the rearing of echinoid larvae. Journ. Mar. Biol. Ass. 6, pp. 94-97.
8. 1903 The Development of *Echinus esculentus*, together with some Points in the Development of *E. miliaris* and *E. acutus*. Phil. Trans. Roy. Soc. Ser. B. vol. 195.
9. 1907 The Development of *Ophiothrix fragilis*. Quart. Journ. Micr. Sci. vol. 51.
10. 1918 The Development of *Echinocardium cordatum*. Part II. The Development of the Internal Organs. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 63, part 2.

11. MORTENSEN, TH.

1913 Die Echinodermenlarven der deutschen Südpolar Exped. Zool. 6. Band. XIV.

12. 1913 On the Development of some British Echinoderms. Journ. Mar. Biol. Ass. United Kingdom. New Ser. Vol. X, N.^o 1.

13. 1920 Notes on the Development and larval forms of some Scandinavian Echinoderms. Vidensk. Meddel. Dansk. Naturhist. Foren. 71.

14. 1921 Studies of the Development and Larval forms of Echinoderms. Copenhagen.

15. 1928-51 Monograph of the Echinoidea, 15 vols. Copenhagen.

16. 1931-38 Contributions to the study of the development and larval forms of Echinoderms, I-IV. Kobenhavn.

17. 1952 Echinoidea and Ophiuroidea. Reports of the Lund University Chile Expedition, 1948-1949. 3.

18. NARASIMHAMURTI, N.

1933 The Development of *Ophiocoma nigra*. Quart. Journ. Micr. Sci. vol. 76.

19. OHSHIMA, H.

1920 The Occurrence of Situs inversus among artificially-reared Echinoid Larvae. Princeton, N. J., 1921.

20. 1921 Notes on the Larval Skeleton of *Spatangus purpureus*. Quart. Journ. Micr. Sci. vol. 65.

21. 1921 On the Development of *Cucumaria echinata* v. Marengeller. Quart. Journ. Micr. Sci. vol. 65.

22. ONODA, KATZUSO.

1936 Notes on the Development of some Japanese Echinoids with special reference to the Structure of the Larval Body. Jap. Journ. Zool. Vol. VI.