

Desarrollo embrionario del *Helix Aspersa* (L.)

Juan Carlos Fontanillas Pérez

Profesor Titular de la Cátedra de Biología de la Facultad de Veterinaria de la U.C.M.

En este trabajo se trata por primera vez el desarrollo embrionario del *Helix aspersa*, que junto con el estudio de los parámetros reproductivos de este gastrópodo son de suma importancia para la Industria Helicícola por depender en su mayor parte de estas características reproductivas la rentabilidad de la misma.

Se ha efectuado un amplio trabajo experimental, en el vivario de la Cátedra de Biología de la Facultad de Veterinaria de Madrid, para el establecimiento de las fases y características embrionarias del *Helix aspersa*.

Inicialmente se ha puesto a punto una metodología específica para la observación de los embriones de *Helix aspersa* con instrumental óptico, así como para su mantenimiento en condiciones de viabilidad y observación microscópica durante el mayor tiempo posible.

Seguidamente se hace un sucinto estudio cronológico de las distintas fases que componen la embriogénesis del *Helix aspersa*, en dos lotes de puestas, uno en el que se mantienen los huevos descapsulados desde la oviposición hasta el final del desarrollo y otro en el que los huevos son descapsulados en el momento de la observación y eliminados seguidamente.

Según este estudio se han establecido XV fases embrionarias relacionándose con el día en que tienen lugar.

REVISION BIBLIOGRAFICA

Los Moluscos en general y los Gastrópodos en particular se reproducen mediante huevos telolecitos con segmentación espiral y desarrollo embrionario en mosaico. GRASSE (1976), MEGLITSCH (1978), WEISZ (1978).

Las dos primeras divisiones celulares que tienen lugar en el embrión terminan con la formación de cuatro blastómeros iguales.

La larva trocófera es especialmente característica de los Anélidos y Moluscos, se forma después de una segmentación espiral determinada. Los blastómeros forman una roseta y posteriormente una cruz de las últimas fases de la segmentación.

Existen blastómeros, que forman el ectodermo del polo animal de la blástula. Es decir, la parte apical de la larva trocófera, incluyendo el órgano sensorial apical, los ganglios cerebroides que se desarrollan cerca y el ectodermo apical. Estos blastómeros pueden, así mismo, contribuir a la formación de los nefridios.

Los blastómeros del segundo cuarteto, 2a-2d, participan en la formación del ectodermo superficial y del estomodeo. HEGNER (1968), BARNES (1985), GRASSE (1976), MEGLITSCH (1978).

El anillo nervioso principal rodea la larva por debajo del prototroco; está unido a un número variable de nervios radiales que derivan del ganglio apical situado en la base del órgano sensorial apical. Un par de bandas endomesodérmicas, originadas por los teloblastos, son paralelas al tubo digestivo. El hemisferio interior contiene un par de nefridios que terminan en uno o varios solenocitos. HEGNER (1968), BARNES (1985), GRASSE (1976), MEGLITSCH (1978).

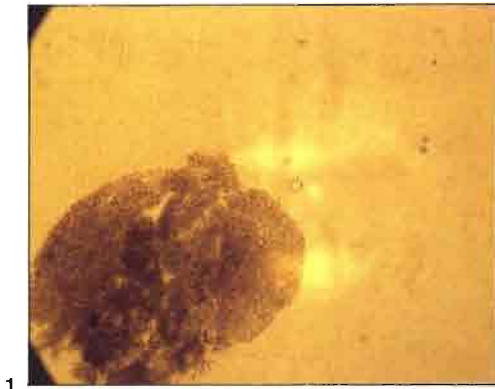
La transformación de una trocófera en una velígera implica una diferenciación considerable de las diversas partes y algunos cambios en la organización fundamental. El blastoporo se cierra, se forma un estomodeo que va a comunicarse con el tubo digestivo primitivo y comienza a diferenciarse en las estructuras bucales. El prototroco crece y se orienta

gradualmente en una posición más dorsal para formar finalmente un amplio velo bilobulado en forma de embudo, con los bordes muy ciliados. Al mismo tiempo, en la superficie posterodorsal aparece la glándula de la concha que empieza a segregar la concha larvaria. Al principio esta glándula es una cápsula posterodorsal que crece por los bordes acabando por encerrar todo el conjunto de la masa visceral. Durante este período se va formando el manto y la cavidad paleal larvaria que contiene el ano.

En la parte ventral del estomodeo el cuerpo proyecta, a partir del manto, un esbozo del pie en el que se forman estatocistos laterales. Por encima de la boca, en el centro del velo, se desarrollan un par de ojos, que finalmente se sitúan en la base de los esbozos de los tentáculos cefálicos.

Mientras se producen estos cambios, el material nutritivo del huevo se concentra en un saco nutritivo en el ápice de la masa visceral. En el desarrollo posterior la glándula digestiva llegará a ocupar esta posición. El cuerpo se encontrará envuelto por el manto, que está creciendo y los órganos internos se desarrollan también rápidamente en la parte dorsal, lo que tiene por efecto trasladar el ano hacia delante, hacia la abertura de la concha larvaria, lo que da al tubo digestivo su forma característica en U. Poco después de este momento tiene lugar la torsión. Según GRASSE (1968) el fenómeno de la torsión en el *Helix pomatia* tiene una duración de 10 días.

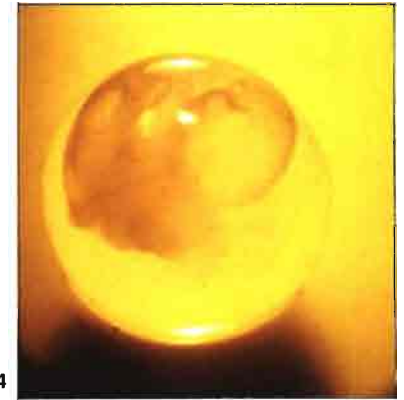
El embrión de los Moluscos durante su desarrollo aproxima el ano al blastoporo mediante un fenómeno de flexión ventral. El celoma se forma por esquizocelia. El embrión pasa por la fase de larva trocófera seguida de la larva velígera antes de producirse la eclosión. MEGLITSCH (1978), WEISZ (1978).



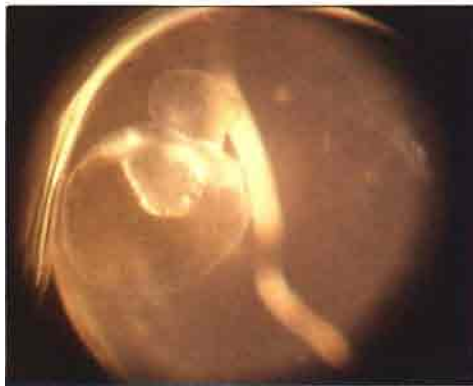
1



3



4



2



5

Foto 1. Embrión de 1 día.

Foto 2. Embrión de 6 días.

Foto 3 Embrión de 7 días (detalle del corazón).

Foto 4. Embrión de 10 días.

Foto 5. Embrión de 12 días.

Los Gastrópodos del género *Helix* poseen un desarrollo directo sin estadios larvarios libres, lo que implica que la larva trocófera y velígera se desarrollan en el interior del huevo, estando representada la primera fase de vida libre por animales semejantes al adulto. WEISZ (1978).

Durante la embriogénesis además de la flexión ventral sufren una espiralización o torsión dorsal de la masa visceral, lo que determina en gran medida su constitución orgánica definitiva. MEGLITSCH (1978), WEISZ (1978).

En los Gastrópodos la torsión se produce cuando alcanza el estadio de velíger. En este estado ha aparecido el manto y el velo, que forma el extremo anterior del embrión. El cuerpo está curvado con la cabeza y el pie sobresaliendo del manto. La masa visceral ha empezado ya a formar una espiral. El conjunto de la masa visceral gira 180°, lo que dura unos pocos minutos HEGNER, GRASSE (1968), GRASSE (1976), MEGLITSCH (1978).

El crecimiento hacia arriba de la masa visceral tiene también efecto sobre el tubo digestivo, dándole forma de U, aproximando el ano a la

boca. WEISZ (1975), MEGLITSCH (1978).

A medida que continúa el desarrollo, el pie crece mucho más y el velo se hace comparativamente más pequeño y el animal se convierte en un joven que va a vivir como adulto. HEGNER (1968), BARNES (1985), GRASSE (1976), MEGLITSCH (1978).

En un periodo avanzado el pie y la región cefálica preoral se hinchan del líquido vitelino y actúan a modo de órganos pulsátiles, asegurando de esta manera el movimiento del vitelo líquido. Sobre la superficie dorsal del pie una vesícula ectodérmica contráctil colabora en el movimiento de los fluidos del embrión, siendo denominado corazón larvario. Dos protonefridios completamente independientes del nefridio definitivo aseguran las funciones excretoras. GRASSE (1976).

La concha definitiva es segregada por la glándula conchífera. Aparece en el desarrollo embrionario, en el estado de larva velíger y crece durante toda la vida del animal. Al principio es un simple capuchón, después forma una espiral plana que, en general, evoluciona gradualmente hacia una espira cónica. Las primeras espi-

ras de la concha embrionaria constituyen la protoconcha, que muchas veces se distingue del resto de la concha por diferencias en la ornamentación o en el arrollamiento. GRASSE (1968), GRASSE (1976), MEGLITSCH (1978).

MATERIAL Y METODOS

El desarrollo embrionario a partir de un cigoto, es la combinación perfectamente equilibrada de tres procesos fundamentales: crecimiento, morfogénesis y diferenciación celular.

Estos tres procesos que acabamos de indicar se encuentran íntimamente relacionados entre sí, de aquí que su estudio ha de hacerse de forma conjunta, a través de una observación diaria y consecuente de cada uno de los resultados equilibrados que tienen lugar en cada instante de la formación de un caracol.

Para la determinación de las fases embrionarias y el momento de su aparición se han realizado una serie de observaciones sobre un total de 100 huevos fecundados procedentes de los 400 caracoles *Helix aspersa* de la experiencia.

El primer paso para este estudio consistió en la puesta a punto de técnicas que permitiesen una rápida y sencilla identificación de las fases del desarrollo en que se encontrase el embrión. Identificadas las fases se procedió a establecer los periodos de tiempo que tardan en producirse cada una de las mismas.

Metodología para la observación de las fases del desarrollo embrionario

Para poder efectuar la observación de los embriones del caracol, bien sea mediante el microscopio óptico o con la lupa binocular, fue necesario en primer lugar proceder a la descapsulación de los huevos o retirada de la membrana secundaria, rica en sales cálcicas, debido a su gran opacidad.

Una vez descapsulado el huevo se dispone en una caja de Petri de 35 mm. de diámetro y se cubre totalmente de solución salina isotónica con el fin de evitar la deshidratación del huevo y la refracción de los rayos luminosos procedentes del sistema de iluminación del microscopio óptico o de la lupa binocular.

Posteriormente, por observación diaria con lupa binocular o microscopio óptico, fue posible hacer un seguimiento continuado del proceso del desarrollo a cada uno de los huevos.

Los embriones se mantuvieron a una temperatura constante de 20°C durante todo el desarrollo embrionario y a una humedad convenientemente ajustada.

Paralelamente a esta experiencia, a lo largo de toda la incubación, se observaron individualmente embriones de huevos aislados, descapsulados en el momento, a fin de poder comparar su estadio evolutivo con el de embriones de huevos descapsulados inicialmente. Es decir, se pretendió intercomparar el desarrollo embrionario en condiciones artificiales con el desarrollo que se produce en condiciones naturales, sin mantener los huevos descapsulados durante todo su desarrollo.

RESULTADOS

Los resultados que se van a exponer a continuación proceden de la observación minuciosa y seriada de las siguientes fases del desarrollo embrionario:

Fase I: Zigoto sin signos de división celular.

Fase II: Aparición de mórula.

Fase III: Aparición de blastulación.

Fase IV: Aparición de gastrulación.

Fase V: Aparición de los velos o sacos embrionarios.

Fase VI: Aparición del esbozo del pie.

Fase VII: Formación del corazón.

Fase VIII: Formación de la concha embrionaria.

Fase IX: Aparición de los esbozos de los tentáculos.

Fase X: Aparición de la cavidad paleal.

Fase XI: Aparición del aparato reproductor.

Fase XII: Aparición del aparato excretor.

Fase XIII: Formación de la concha definitiva.

Fase XIV: Involución de los sacos embrionarios.

Fase XV: Eclosión.

Dado el gran número de embriones observados, y las diferencias existentes en los correspondientes tiempos de incubación, la aparición de las distintas fases sufría variaciones entre 8 y 10 horas durante los primeros 7 días y de aproximadamente 24 horas durante el resto del desarrollo embrionario.

Los resultados reflejados en este trabajo corresponden en todos los casos a los obtenidos para valores de tiempos medios y considerando el periodo de incubación en 13 días.

Seguidamente describiremos cronológicamente la evolución de las distintas fases embrionarias durante los 13 días, que dura por término medio el desarrollo embrionario.

Durante las primeras 24 horas el embrión ocupa aproximadamente el 1% del volumen total del huevo. La vesícula germinal se presenta como una pequeña mancha blanca localizada excéntricamente cerca de la periferia del huevo y se puede visualizar a simple vista o con lupa binocular.

Al microscopio óptico se presenta como una mancha oscura sin signos visibles de división celular. En el centro de la vesícula germinal se ve una zona redondeada, menos densa, que

corresponde al óvulo. Este está rodeado de pequeñas vesículas de distinto tamaño presentando un contorno irregular de forma ovalada.

En la mayoría de los huevos observados en este trabajo durante esta fase se ha podido comprobar la presencia de un solo espermatozoide en las proximidades de la vesícula germinal. **(Foto 1).**

A las 48 horas se ve que el embrión ha aumentado ligeramente de tamaño y se puede ya apreciar claramente, con la lupa binocular, una mórula perfectamente formada de color blanco nacarado.

Al tercer día comienza el desarrollo de la blástula, presentando un tamaño doble al de la vesícula germinativa original. Su forma es pentagonal, irregular y se puede observar perfectamente el blastoporo.

La evolución de la blástula es muy rápida, algo menos de 24 horas, comenzándose a distinguir el polo animal y el vegetativo al final de las 72 horas.

En el cuarto día la diferencia entre el polo animal y vegetativo empieza a ser ya marcada, siendo la proporción de sus tamaños de uno a cuatro respectivamente.

El polo animal es más denso y de color blanconacarado, mientras que el vegetativo se presenta traslúcido y con una superficie granular perfectamente observable.

Al quinto día el embrión ocupa ya un 15% del huevo. La parte ha alcanzado un tamaño tan grande como la vegetativa, que sigue siendo todavía traslúcida.

En esta fase aparece el esbozo del pie como una pequeña lengua en forma de hacha y semejante al pie de los Pelecípodos.

La parte del embrión crece hacia la parte interior de la vegetativa invaginándose dentro de ella, dando lugar a que esta última recubra en parte al embrión.

La posición del embrión continúa siendo excéntrica respecto al huevo, al igual que en el momento de la oviposición. Presenta forma aplanada creciendo longitudinalmente. Rodeando al embrión aparecen dos velos o sacos embrionarios, en posiciones anterior y posterior..

Llegado el **sexto día** el embrión

ocupa cerca del 30% del total del huevo, y sigue presentando todavía una posición excéntrica. El corazón comienza a ser visible, y sus latidos son lentos y arrítmicos. Empieza a diferenciarse la concha embrionaria, con una gran zona traslúcida, formada por grandes masas irregulares. **(Foto 2).**

El séptimo día el embrión ocupa el 55% del volumen total del huevo. Se puede apreciar ya un gran desarrollo de los velos o sacos embrionarios, dotados de ligeros movimientos que afectan igualmente al pie.

El embrión presenta una fuerte torsión de la masa visceral.

Los latidos cardiacos siguen siendo aún lentos y arrítmicos, y la concha embrionaria presenta un aspecto más denso.

En esta fase aparecen los esbozos de los tentáculos, pero no se observa todavía las manchas oculares. **(Foto 3).**

Llegando al **octavo día** los velos o sacos embrionarios abarcan más del 65% del huevo pudiéndose distinguir claramente el velo anterior, que se extiende a lo largo del perímetro del huevo en forma más redondeada y que envuelve la masa visceral. Estos velos presentan movimientos irregulares, variando momentáneamente de forma y de posición.

Los movimientos embrionarios disminuyen a medida que el embrión crece.

El pie ya está muy desarrollado y presenta una forma trapezoide.

Los latidos cardiacos se hacen más uniformes.

Al noveno día el embrión llega a ocupar el 70% del huevo. Los velos embrionarios comienzan a reabsorberse. El corazón late rítmicamente y su velocidad ha aumentado, siendo del orden de más de 70 contracciones por minuto.

Al décimo día el espacio del huevo ocupado por el embrión viene siendo del 80%. El saco anterior ha desaparecido casi totalmente, pero el posterior mantiene todavía un gran desarrollo.

El pie está prácticamente formado y se pueden distinguir sus tres partes: propodio, mesopodio y metapodio.

En el corazón, ya perfectamente formado, se puede observar clara-

mente la aurícula, el ventrículo y el saco embrionario que lo rodea.

Igualmente en esta fase se desarrolla totalmente la cavidad paleal.

También se puede apreciar perfectamente la concha embrionaria, que es transparente. **(Foto 4).**

Al undécimo día del desarrollo, la boca aparece perfectamente formada presentando movimientos continuos.

Se puede apreciar ya el aparato reproductor, ocupando prácticamente toda la masa visceral, y el riñón. Este último está localizado inmediatamente por debajo del corazón, con forma triangular muy alargada y con un vértice dirigido hacia la parte caudal.

El velo embrionario anterior ha desaparecido en su totalidad quedando exclusivamente el saco posterior.

Aparece la concha definitiva de aspecto más denso que la embrionaria, pero aún transparente.

A los doce días el embrión ocupa todo el volumen del huevo. El saco embrionario posterior está muy reducido, limitándose a una pequeña vesícula. Las vísceras son todavía perfectamente visibles a través de la concha definitiva.

El saco embrionario, aún presente, va regresando rápidamente según se acerca el momento de la eclosión, hasta desaparecer totalmente momentos antes de la misma. **(Foto 5).**

El decimotercer día tiene lugar la eclosión del nuevo individuo, producida por la rotura inducida de la envoltura externa del huevo. El embrión ingiere los restos de albúmina y comienza posteriormente a devorar la cubierta externa, practicando un orificio en ésta. Mediante movimientos giratorios va comiendo los restos de las envolturas del huevo, permaneciendo dentro de él durante unas doce horas. Tiempo suficiente para que las cubiertas del huevo prácticamente hayan desaparecido, y se pueda producir la liberación completa del caracol. Los demás restos de las cubiertas del huevo son ingeridos en las 24 horas siguientes a la eclosión.

RESULTADOS

1. Existe la posibilidad de que la cariogamia se produzca después de las 24 horas, ya que se ha evidencia-

do la presencia de un espermatozoide en la proximidad del óvulo durante este periodo.

2. Los Gastrópodos del género *Helix* poseen un desarrollo directo sin estadios larvarios libres, lo que implica que la larva trocófera y velígera se desarrollan en el interior del huevo estando representada la primera fase de vida libre por animales semejantes al adulto.

3. Los velos o sacos embrionarios carecen de vellosidades por no tener función natatoria, ya que dada la gran densidad del vitelo su misión es actuar como órganos pulsátiles colaborando en la distribución de los fluidos circulatorios.

4. En el desarrollo embrionario se pueden considerar XV fases perfectamente marcadas.

BIBLIOGRAFIA

Barnes, R.D. (1985): *Zoología de los invertebrados*. Ed. Interamericana. Mexico.

Coming, W., Dyal, J., Wilows, A. (1973): *Invertebrate learning*. Plenum Press, New York, 2.

Fontanillas, J.C. (1989): *El caracol: biología, patología y helicultiva*. Ed. Mundi-prensa. Madrid.

Gatemby, J. (1960): *Notes on the gametogenesis of a pulmonate mollusc*. La Cellule, 60, 289-300.

Gomot, L. (1973): *Study of the functioning of the reproductive organs of Helix aspersa snail by the method of organ cultures*. Archives d'Histologie et d'Embriologie. France. Vol. 56, n° 1, 131-160.

Grasse, P.P., Poisson, R.A. et Tuzet, O. (1976): *Zoología*. Toray-Masson, Barcelona 1.

Griffond, B. et Bride, J. 1981. *Etude histologique et ultrastructurale de la gonade d'Helix aspersa Muller à l'éclosion*. Reprod. Nutr. Dévelop. 21, (1), 149-161.

Hegner, R.W., Engemann, J.G. (1968): *Invertebrate zoology*. Ed. McMillan Publishing Co., Inc. New York.

Lucarz, A. (1981): *Experimental study of the effect of population density on egg-laying by the snail Helix aspersa*. International Journal of invertebrate reproduction and development. Netherlands. Vol. 7, n° 3, 185-192.

Meglitsch, P. (1978). *Zoología de invertebrados*. Ed. Blumes. Madrid.

Perez Tauler, P. (1990): *Biología de la reproducción y del desarrollo embrionario del Helix aspersa (L.)*. Tesina de la Facultad de Veterinaria de la U.C.M.

Weisz, P.B. (1975): *Ciencia de la Biología*. Ed. Omega. Barcelona.

Weisz, P.B. (1978): *Ciencia de la Zoología*. Ed. Omega. Barcelona.