

HUEVOS Y LARVAS DE ANFIBIOS

Por Federico Puente Amestoy

Los caracteres utilizados para la determinación de nuestros anfibios en trabajos anteriores (1 y 2), se refieren especialmente a su fase o estado adulto que, si bien es la principal (y final) de su completo desarrollo es solamente una de la larga serie de estadios por los que pasan desde su nacimiento hasta su muerte (ontogenia). Todos los primeros estados, transitorios, (embriogenia) son de una especial importancia en los batracios, que como se sabe, sufren metamorfosis, es decir, un cambio brusco en su organización y habitat; de acuático a terrestre.

Es fácil encontrar o descubrir en el agua, lo mismo estancada que corriente (ríos, fuentes, charcas, balsas, etc.) en cualquier época del año, alguno de nuestros batracios, en una o varias de sus distintas fases o estados de desarrollo, y como también con facilidad pueden ser conservados en acuarios o vivarios caseros, damos las nociones fundamentales para que puedan ser conservados, estudiados y reconocidos en cualquier fase de su desarrollo.

Los cambios experimentados en su desarrollo, desde el huevo hasta el comienzo del estado juvenil de su forma definitiva, pueden reducirse a tres grandes o esenciales *fases*: huevo; embrión; y larva. Y las tres acciones o *procesos* que dan origen o señalan el comienzo de la fase siguiente son: fecundación; eclosión; y metamorfosis. O sea:

Huevo (fecundación) → embrión (eclosión) → larva (metamorfosis) → joven anfibio.

Estas fases tienen distinto valor en los dos órdenes (y en sus especies) en que se hallan comprendidos nuestros batracios: anuros y urodelos: en éstos últimos las larvas ofrecen menores diferencias con la fase adulta y por tanto sus metamorfosis son menos marcadas que en los anuros.

Cada una de estas grandes fases, comprende un gran número de *pasos* o cambios, que nosotros reduciremos a los más destacados o apreciables exteriormente.

HUEVOS DE LOS ANFIBIOS.—Son producidos por los ovarios (un par en cada ♀), por decenas, cientos o miles; en mayor número

(1) "Batracios", Munibe-1949.

(2) "Herpetología alavesa" en el Vol. Hom. a D. J. Mendizabal-1956.

en los anuros que en los urodelos. En la época de la reproducción (que tiene lugar después de la hibernación), por la estimulación normal de la hormona de la parte anterior (adenohipófisis) de la glándula pituitaria (*) activada por la influencia de factores ambientales, como la luz, temperatura y alimentación, son liberados del ovario (ovulación) por ruptura y emergencia de sus folículos individuales y vertidos en la cavidad general (celoma). Desde aquí son dirigidos, los huevos, por medio de los cilios peritoneales (desarrollados en el celoma de la ♀ como respuesta a una hormona ovárica) hacia el extremo anterior de los oviductos (infundibulum), abierto en forma de embudo (trompa), con sus paredes muy elásticas y ciliadas interiormente. La ovulación se realiza en la rana en unos minutos —4 a 10— a la temperatura del laboratorio, y el huevo llega al oviducto dentro de las dos horas siguientes (3). Una vez que el huevo ha penetrado en los oviductos y comienza a adquirir una envoltura gelatinosa (mucina) es ya fertilizable. El huevo impulsado por las corrientes ciliares camina a lo largo de los oviductos con un movimiento en espiral, recubriéndose, así, uniformemente con las capas de albumen gelatinoso segregado por las células glandulares de las paredes del oviducto, hasta alcanzar su parte final, que se halla muy dilatada, formando un *ovisaco* o *útero*, donde son almacenados, antes de su puesta en los anuros, y retenidos hasta su fecundación en los urodelos.

El huevo de los anfibios es una gran célula esférica (de 1 a 4 mm. de diámetro) con un *núcleo* (cuyo esencial componente es el *ácido desoxirribosa-nucleico*, o abreviadamente, ADN o DNA); una importante cantidad de *citoplasma* (que contiene *ácido ribosa-nucleico*, o ARN = RNA) y una moderada cantidad de *vitelo alimenticio* o vitellus (formado principalmente por *lecitina*), en forma de pequeños gránulos o plaquitas que, por su mayor densidad tienden a ocupar la parte inferior del huevo (hemisferio inferior o vegetal); la parte superior ocupada por el citoplasma y núcleo, es el hemisferio animal. Por su moderado contenido de vitelo alimenticio, estos huevos se denominan *mesolecíticos* (4), aun los que lo poseen en mayor cantidad como los del *Alytes*, o en mayor grado aún, la *Salamandra*. La capa superficial que rodea al huevo contiene gránulos de pigmento negro (melanina), localizados principalmente en el hemisferio animal, que aparece así exteriormente de un color más oscuro que el resto, de color blanco-crema. Aplicada directamente sobre la membrana vitelina, se halla la envoltura gelatinosa, poco apreciable cuando se hallan en los oviductos, pero muy

(*) Experimentalmente puede provocarse la ovulación en cualquier época del año, por inyección de esta hormona.

(3) Roberts Rugh "The Frog", 1951. Philadelphia.

(4) A. S. Romer "The vertebrate body", 1955, (2.8 ed.).

agrandable por imbibición en el agua: en los anuros (excepto el *Alytes*) y menos agrandable, pero muy adherente y de forma oval, en los urodelos.

Este huevo, a pesar de su aparente, poco complicada organización, contiene en sí todas las potencialidades necesarias para el completo desarrollo del ser, hallándose como en reposo, en espera del estímulo apropiado (fertilización) que desencadene e inicie su desarrollo ontogénico.

Fecundación y oviposición

A) En los Urodelos, la fecundación es interna, realizándose por consiguiente antes de su puesta. Tiene lugar dentro del agua (menos en la *Salamandra* que la realiza en tierra); sin enlazamiento o amplexus en los *Triturus*, y con amplexus en *Salamandra* y *Pleurodeles*; y ayudados por su cola prensil en *Euproctus*. El macho deposita uno o más espermatoforos (paquetes cargados de espermatozoides) junto a la hembra que ésta recoge entre sus labios cloacales. Nuestros urodelos (*Salamandridos*) poseen una bolsa especial (*receptaculum seminis* o espemateca) en la cual los espermatozoides pueden ser conservados en reserva, por un período más o menos largo (de hasta 2 años en la *Salamandra*). La postura (oviposición) puede comenzar ya a las pocas horas de su fecundación, siendo colocados uno a uno o en pequeños paquetes adheridos a los vegetales acuáticos, escalonándose la postura por varios días o meses, excepto en la *Salamandra*, vivipara, en la que, el nacimiento de la larva tiene lugar varios meses después cuando se halla muy avanzada en su desarrollo.

B) En los Anuros, la fecundación es externa y verificada por el macho durante el amplexus, dentro del agua (menos en el *Alytes*, realizada en tierra), al mismo tiempo y a medida que las hembras realizan la postura de los huevos.

FERTILIZACION.—Comprende un doble proceso: 1.º - la *activación* o iniciación del desarrollo del huevo, realizada normalmente por la penetración del espermatozoide de la misma especie, pero que, experimentalmente, puede provocarse por varios agentes partenogénicas (físicos o químicos, como la picadura con un alfiler de la membrana vitelina, o la acción del agua destilada, o la solución de Ringer, exenta de Ca, y un ph de 7,5 a 10,2) (3) y 2.º - la *anfinixis*, o unión y fusión (singamia) de los dos pronúcleos ♂ y ♀ que contienen las potencialidades hereditarias (nucleares y cromosomales). La prueba más visible de la activación y que puede observarse en el huevo de rana con ayuda de una lente (3), es la elevación o separación de la mem-

brana vitelina (o membrana de fertilización) y contracción del huevo apareciendo ambos, huevo y membrana, separados por una capa líquida (líquido perivitelino) dentro de la cual el huevo es libre de rodar por la acción de la gravedad, apareciendo arriba el polo animal y en la parte inferior el polo vegetal. En el huevo de rana artificialmente inseminado, la rotación es completa una hora después de la inseminación (3). Otra consecuencia de la penetración del espermatozoide, es el hinchamiento de la cubierta gelatinosa hasta su grado máximo; puede observarse con pequeño aumento, contra un fondo oscuro, que, a los 5 minutos la imbibición es de un 30%; a los 15 minutos de casi 75%, y después continúa el hinchamiento más lentamente. Esta capa gelatinosa tiene una gran importancia, proporcionando al huevo una eficaz protección contra la ingestión o lesión por organismos mayores, o las infecciones por hongos o seres inferiores; ayuda al huevo a conservar su propio calor, desarrollado metabólicamente, por actuar como aislante del calor. Antiguamente se suponía, erróneamente, que actuaba como una lente concentrando los rayos del sol dentro del huevo.

DESARROLLO DEL EMBRION.—Los huevos no fertilizados, después de la oviposición, mueren al cabo de un tiempo relativamente corto; pero los fertilizados (cigotos) comienzan una serie de transformaciones esencialmente iguales en todos los anfibios, denominadas: segmentación, gastrulación y neurulación, adquiriendo finalmente, el embrión, la forma característica de la larva.

Segmentación: Inmediatamente después de la activación del huevo, comienza el proceso conocido con el nombre de segmentación, realizado a velocidad dependiente de la temperatura, dentro de ciertos límites. La 1.^a segmentación divide al huevo en dos partes iguales (blastómeros), por un plano meridional que pasa por ambos polos (animal y vegetal), comenzando por la formación de un surco o hendidura en el polo animal, que al progresar hacia abajo, encuentra alguna dificultad para la división de los materiales vitelinos, por lo que la 2.^o división puede comenzar antes de terminarse la 1.^a; se realiza (la 2.^a) por un plano meridional perpendicular al 1.^o, dando por resultado 4 blastómeros iguales. La 3.^a división se efectúa por un plano ecuatorial, perpendicular a los dos anteriores, pero un poco encima del ecuador (tanto más arriba cuanto mayor sea su contenido de vitellus) los 8 blastómeros así originados son de distinto tamaño, existiendo desde este momento en el huevo de anfibio, una marcada diferencia entre las pequeñas células del hemisferio animal (microcélulas) y las grandes células del hemisferio animal ricas en vitelo (macrocélulas). En la parte interior del huevo los blastómeros dejan desde el principio un espacio, llamado

cavidad de segmentación o *blastocelio*, que aumenta con la segmentación y que al final resulta excéntrica, por el diferente tamaño de las células superiores y las inferiores. Esta cavidad representa en el huevo de rana, el 20% del tamaño total de la blástula así originada.

Gastrulación: La blástula, consta de una sola embrionaria (epiblasto o ectoblasto) transformándose por el proceso conocido por el nombre de gastrulación en un germen de *tres hojas embrionarias*, denominado *gástrula*. El primer cambio, visible exteriormente, es la formación de una hendidura, en forma de media luna, formada por involución de la región denominada labio dorsal del blastoporo. Por epibolia de la zona marginal, las microcélulas del hemisferio animal se extienden y recubren a las macrocélulas del polo vegetal, formándose un círculo, cada vez más pequeño, resultando una abertura (blastoporo) que comunica con una cavidad interior (gastrocelio o arquenterón) resultante del desarrollo de la 2.^a hoja, interna o endodermo, continua con la primera. Al mismo tiempo se forma la tercera hoja o mesodermo, entre las dos anteriores, y el notocordio, originado a partir del labio dorsal que actúa como el principal centro «organizador».

Neurulación: La gástrula que tiene forma oval, adquiere enseñada una forma alargada y ligeramente convexa en la parte dorsal del ectodermo (neuro-ectodermo) por la formación de la *placa neural* o medular, extendida desde el labio dorsal del blastoporo hacia la parte anterior, en cuyo extremo se ensancha. Los márgenes laterales y transversos de esta placa, forman un repliegue (pliegue neural transverso y laterales) que se eleva y junta por su parte superior formando el *tubo neural*, que dará origen al sistema nervioso central. El embrión en este estado es conocido como *neurula*.

Esbozo de la forma exterior del cuerpo: El dorso del embrión algo curvado se endereza y en la parte anterior se proyecta un brote o saliente que formará la cabeza, y otro pequeño saliente en la parte posterior, por detrás del blastoporo, formará la cola. Al mismo tiempo comienza el modelado de la extremidad cefálica; los ojos, las fositas olfativas y auditivas; el aparato de fijación de la larva de los anuros, aparecen y son visibles al exterior, así como los arcos y aberturas branquiales. La parte ventral del cuerpo muy abultada por la masa del hipoblasto vitelino, se alarga también por reducción del vitelo a medida que es utilizado. En este momento existe una marcada diferencia entre el embrión de los urodelos y anuros.

Metabolismo del huevo de los Anfibios: Durante la segmentación, el aumento del número de núcleos exige una síntesis de los componentes nucleares, especialmente del ADN, componente de los cromosomas. La relación núcleo-plasmática $\frac{\text{Volumen del núcleo}}{\text{Volumen del citoplasma}}$ pasa de $\frac{1}{550}$

en el huevo virgen a $\frac{60}{100}$ en la blástula. El huevo de rana sintetiza 4 mgr. de ADN, por cada 1,000 huevos, desde la fecundación hasta la eclosión (5). El ADN se produce a expensas del ARN del citoplasma y éste de los nucleoproteídos existentes en el vitellus.

Durante la segmentación las necesidades energéticas del huevo son muy pequeñas, como lo prueba el hecho de que el huevo de rana puede desarrollarse, en este estado, en anaerobiosis; pero, a partir de la gastrulación, cambia bruscamente su metabolismo, elevándose el cociente respiratorio (por aumento de la glucólisis) agotándose rápidamente sus reservas oxidantes, por el creciente aumento de sus necesidades energéticas, siendo necesarios desde este momento la realización de los cambios gaseosos respiratorios.

El embrión de los anfibios realiza también una importante síntesis de proteínas, (en el curso de su desarrollo, síntesis que evidentemente se opera a expensas de las lipoproteínas del vitelo, que deben sufrir una hidrólisis previa. El catabolismo de las proteínas, produce como principal producto de excreción, amoniaco, producto muy tóxico que debe ser eliminado rápidamente o convertido en urea (ureotelismo) compuesto menos tóxico. Brachet que ha efectuado una serie de dosificaciones del amoniaco y la urea en los huevos de los anfibios, desde su fecundación hasta la neurulación, encuentra cifras muy pequeñas. Estas aumentan después, predominando el amoniaco en las larvas y la urea en el adulto.

El metabolismo del agua adquiere en los anfibios una importancia excepcional. El huevo se hidrata considerablemente durante su desarrollo (aparte de la de su cubierta gelatinosa ya indicada anteriormente). Renzi, da las siguientes cifras: el agua constituye el 53,8% del huevo fecundado; el 60,6% de la blástula, y el 66,5% de la gástrula. Este aumento es paralelo al aumento de volumen del embrión: durante la segmentación el huevo sufre un aumento en su volumen de 14,5%, y en la gastrulación el 7,6%. (Bialaszewicz). De ello se deduce que el agua contribuye grandemente al crecimiento del embrión en los primeros estadios.

En los vertebrados que desarrollan sus huevos en ambiente acuático, la eliminación del amoniaco o urea, no ofrece ninguna dificultad; pero en aquéllos cuyo huevo se desarrolla en tierra o ambiente seco, la solución del doble problema creado por la necesidad de, conservar su contenido de agua y la de, eliminar el amoniaco o urea (que aunque menos nociva alteraría el equilibrio osmótico si se prolongara su retención) se resuelve en los casos más extremos convirtiendo la urea

(5) Jean Brachet "Embryologie chimique", 1947-París.

en ácido úrico (uricotelismo), —muy poco soluble y casi inocuo— y produciendo un huevo con adecuadas reservas de agua y alimento. Estos huevos provistos de una cubierta o cáscara que los aisla completamente del mundo exterior (excepto de los cambios gaseosos) se denominan por esta causa, *huevos cleidoicos* («cerrados»). Los huevos de los anfibios son no cleidoicos: (6) sin embargo el huevo de nuestro *Alytes*, terrestre, puede considerarse como un leve primer paso hacia el huevo cleidoico: sus reservas alimenticias (vitelo) son mayores que los otros anuros; pero sus reservas de agua no son suficientes por lo que periódicamente necesitan ser introducidos en el agua por el macho portador de los mismos para, a la vez que, eliminar los productos de excreción, adquirir el agua necesaria para su desarrollo.

Recogida y cuidado de los huevos de anfibios.—Su recogida no tiene nada de particular. De los grandes racimos de las ranas o largas cintas o cordones de los sapos, puede recogerse una parte de ellos para su más cómoda conservación en pequeños vasos, bodegas o acuarios; los de los tritones (depositados sobre las hojas de plantas acuáticas), se recogerán con las plantas, enteras o en parte. El agua puede ser la de origen o la potable, y el único cuidado exigido es el de procurar su aireación, cuyo mejor medio es por medio de una planta acuática (*Myriophyllum*, *Ranunculus aquatilis*, *Potamogeton crispus*, *Lemna minor*, los más frecuentes en nuestras charcas y ríos). La temperatura la del ambiente, si no se quiere comprobar su influencia sobre la rapidez de su desarrollo, pudiendo conseguirse que huevos de la misma edad (en tiempo físico) tengan distinto desarrollo o edad fisiológica. Los huevos de *Alytes*, si se captura un macho portador de los mismos, pueden ser incubados fácilmente si, como ocurre casi siempre, el macho suelta su paquete de huevos, según lo realizó por primera vez P. Becc (1940); para ello, se introducirán en agua todos los días (no importa que algún día no se haga) durante 15 a 30 minutos; después se secarán, colocándolos sobre un trozo de papel de filtro: ya hemos indicado el objeto de la inmersión en agua; el secado es necesario, para facilitar el intercambio gaseoso a través de su cubierta: huevos dejados dentro del agua, hemos observado que el embrión muere en pocos días: los ojos aparecen primero como dos manchas o circulitos negros, dirigidos hacia la luz; cuando se les invierte, se observa al poco tiempo un movimiento rápido de rotación del embrión dentro de sus cubiertas dirigiendo los ojos hacia la parte superior o iluminada: en este momento, (10-12 días de la puesta) la mitad superior del germen aparece de un color oscuro pero translucido, y la mitad inferior blanco-crema opaco (vitelo); ésta última va gradual-

(6) A. d'A. Bellairs "Reptiles", London-1957.

mente reduciéndose y cuando es muy pequeña o nula, al introducirlos en el agua se produce la eclosión, o salida de la larva en estado avanzado de su desarrollo (en su segundo periodo o renacuajo), nadando ágilmente. La eclosión o liberación de la larva de sus cubiertas, se atribuye en muchos anfibios, a la secreción de ciertas células frontales que producen un fermento «fermento de eclosión» que digiere la cápsula que la rodea. Noble ha descrito detalladamente el mecanismo de la eclosión del *Alytes* europeo. En nuestro *Alytes* hemos observado que la eclosión de los huevos, completamente desarrollados, se realiza muy rápidamente (menos de 10 minutos); sucesivamente tiene lugar la salida de las otras larvas con diferencias de hasta varias horas: la salida comienza formándose una pequeña hernia en las cubiertas del huevo que rápidamente crece y explota, agrandando la larva la ruptura con sus movimientos. La salida de la larva no es siempre por la cabeza; a veces lo hace por un costado o por la cola, en este caso la larva tiene que realizar varias sacudidas para lograr sacar la cabeza. En la eclosión del *Alytes*, intervienen por tanto, activamente, además de la secreción del fermento, el agua y los movimientos de la larva. De un racimo de 64 huevos, obtuvimos 45 larvas en perfectas condiciones de vitalidad (o sea el 70 %). Los restantes correspondían a larvas o huevos incompletamente desarrollados, por diversas causas.

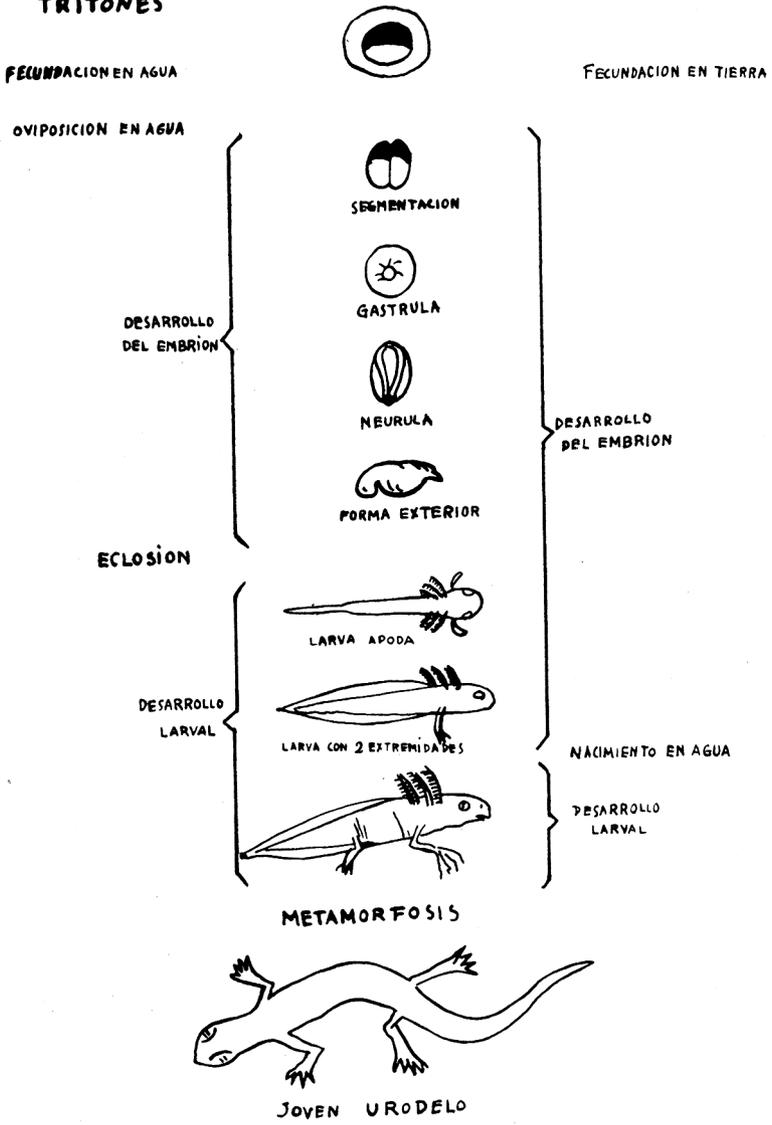
Larvas y metamorfosis

Urodelos: En los tritones, las larvas al salir de las cubiertas del huevo (eclosión) poseen ya, branquias externas, en forma de tres peñachos, y cola perfectamente desarrollada, provista de un repliegue cutáneo que la bordea (cresta caudal) y que facilita sus movimientos en el agua, y que se prolonga sobre el dorso (cresta dorsal); carecen de extremidades. Desde el primer momento su alimentación es carnívora. Al poco tiempo aparecen sus extremidades, en primer lugar, las anteriores, en forma de muñones que se alargan gradualmente, se acodillan y sucesivamente adquieren los dedos, primeramente dos, luego tres y finalmente 4 (en las extremidades anteriores) o 5 (en las posteriores). Los dedos, a veces, se alargan considerablemente en forma de delgados hilos debido al desarrollo de la última falange, para reducirse al final del periodo larval. Un órgano notable que existe en las larvas antes de la aparición de las extremidades es el denominado «balancín» (por habersele supuesto esta función), situado detrás de la boca y en forma de estilete con su extremidad ligeramente ensanchada: tiene la misma función que los órganos adhesivos de las larvas de los anuros.

La coloración de las larvas de los urodelos es muy distinta de la

RESUMEN ESQUEMATICO DEL DESARROLLO DE LOS URODELOS SALAMANDRA

TRITONES



que presentan en estado perfecto; ésta última va apareciendo gradualmente al final de su desarrollo, siendo entonces siempre la de la hembra, en las especies de librea dimorfa.

En la Salamandra, vivípara, la larva en el momento de la eclosión o nacimiento, se encuentra muy desarrollada (a expensas de la gran cantidad de vitelo de su huevo) poseyendo las branquias y las cuatro extremidades bien desarrolladas.

Después de un período de unos meses, se inician, normalmente, las metamorfosis, cuya primera manifestación es la reducción de las branquias y de las aletas caudales; aparecen los párpados oculares, y a la terminación de estos procesos y adquisición de pulmones, el joven urodelo, sale a tierra.

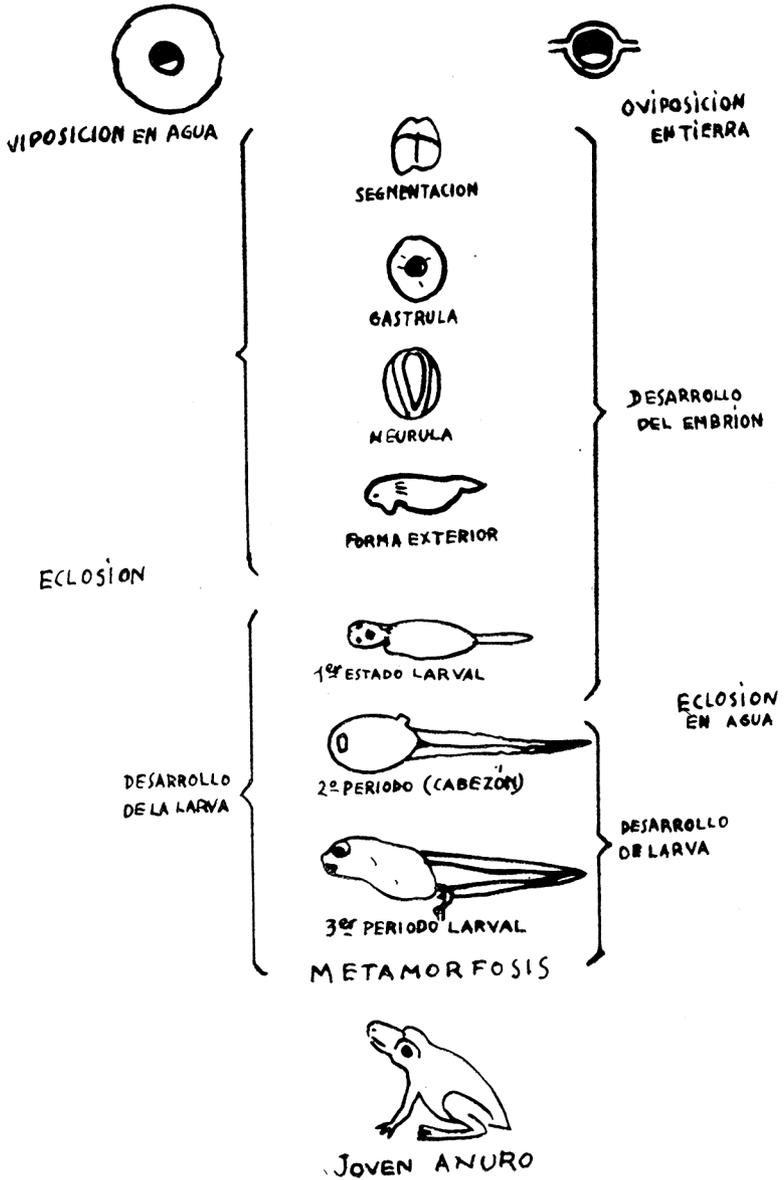
La vida larval puede prolongarse en los urodelos (neotenia) por influencia de condiciones ambientales, (profundidad del agua, armen-tación, etc.). En nuestros urodelos esta *neotenia* es *parcial*, porque la larva es incapaz de reproducirse en dicho estado, a diferencia de la *neotenia total* o *paidogenesis*, como ocurre por ej. en el caso bien conocido del Axolote. Aun en estos casos, la metamorfosis puede realizarse experimentalmente por acción de la glándula tiroideas (o la tiroxina o productos yodados), así como la metamorfosis natural puede detenerse por administración de las denominadas sustancias antitiroideas de síntesis (7).

Anuros: En el estado larval de los anuros se distinguen claramente tres períodos (excepto en el *Alytes*) que son: 1er. período: comprende desde la eclosión hasta la operculación; 2.º período (renacuajo (cabezón) propiamente dicho), desde la formación del espiráculo hasta la aparición de los miembros posteriores; y 3er. período, o final del período larval, el de la metamorfosis.

Primer período: A su salida de las cubiertas del huevo, la larva se halla en las condiciones más rudimentarias: distingúense las tres regiones, cabeza, cuerpo y cola: la cabeza posee en su parte inferior un órgano de adhesión formado por una o dos eminencias llamadas impropriamente «chupadores»; su cola mal desarrollada no le permite desplazarse, por lo que se fija con sus «chupadores» a los restos de las cubiertas del huevo, a las plantas acuáticas o a las paredes del acuario; incapaz de alimentarse por sí misma, se desarrolla a expensas de sus reservas nutritivas (vitelo) almacenadas en la parte ventral del cuerpo; así desarrolla las branquias externas, en los lados posteriores de la cabeza; la boca adquiere labios, se abre el ano y la cola desarrolla las membranas, comenzando a comer vorazmente con dieta

(7) P. Roth "Les métamorphoses des Batraciens", Dunod. 1955.

RESUMEN ESQUEMATICO DEL DESARROLLO DE LOS ANUROS
ANUROS en general ALYTES



vegetariana. Las branquias externas comienzan a cubrirse por un repliegue de la piel, llamado *opérculo*, atrofiándose, al mismo tiempo que se desarrollan las branquias internas que quedan cubiertas completamente por el opérculo, dejando solamente un orificio, el *espiráculo*, por donde sale el agua después de haber bañado las branquias internas.

En el 2.º período larval, el de mayor duración, tiene la forma característica del renacuajo o cabezón; cabeza y tronco confundidos en una sola masa y la cola. La boca adquiere un pico córneo y los labios se revisten de pequeños dientes córneos, visibles con ayuda de una lente, cuya disposición tiene gran importancia en la determinación de las especies. Se hallan dispuestos en *series*, y cada serie consta de una, dos o tres *filas* de dientes. La notación de las series se hace por un quebrado, en el que la cifra del numerador representa el n.º de series existentes en la mandíbula superior, y la del denominador, el de las series de la mandíbula inferior.

Tercer período: La aparición de los miembros posteriores señala el comienzo de la metamorfosis. Durante este período, crítico, se realizan cambios bruscos en la estructura y función de diversos tejidos y órganos: la larva suspende su alimentación: por autólisis y reabsorción desaparecen ciertos tejidos y órganos, como las branquias y la cola; se desarrollan nuevas estructuras, como los párpados y las extremidades; los ojos se abultan; el intestino se acorta, los pulmones constituyen el principal órgano respiratorio; la boca se ensancha y provee de lengua. Todos estos cambios son correlativos al cambio de su habitat, que de acuático, pasa a terrestre, y al de su alimentación, que de vegetariana pasa a carnívora; convirtiéndose así en joven anuro terrestre.

Conservación de las larvas vivas de anfibios: Las larvas de los batracios obtenidas a partir del huevo o recogidas en ese estado, pueden ser observadas a lo largo de su desarrollo posterior, así como en sus metamorfosis, colocándolas en recipientes de vidrio o pequeños acuarios, con agua bien aireada, teniendo cuidado de separar las de anuros, vegetarianas, de las de urodelos, carnívoras.

Anuros: Desde el primer día de su eclosión la larva de anuro (que contiene un 65 % de agua) experimenta un rápido aumento de su contenido en agua, que a los 15 días alcanza su máximo (96 % de agua). Esta imbibición origina un aparente crecimiento que no es real hasta que comienza a alimentarse, lo que sucede en el momento de la aparición de las branquias externas. Se realizará por medio de trocitos de hojas de lechuga, ortiga, espinaca, etc., hervidas previamente en agua. Los recipientes, desde este momento deben limpiarse frecuentemente de sus residuos y materias fecales, para evitar el desarrollo

bacteriano. La rapidez y el valor de su crecimiento depende de varios factores ambientales como son: espacio, calor, oxígeno utilizable y presión. Por esto, si no se quiere retardar su crecimiento, se colocarán como máximo 5 larvas por cada 50 cc. de agua. Cuando aparecen las extremidades posteriores debe dárseles alimentación animal, como gusanos de tierra cortados en muy menudos trozos, trocitos de carne cruda o pescado. Todos estos alimentos ensucian muy prontamente el agua que deberá renovarse frecuentemente. Las larvas muertas también se retirarán lo antes posible. Después de las metamorfosis, los pequeños anuros se alimentan con gusanos vivos (*Enchytraeus albidus* o «gusanos blancos», comercializados) o forzosamente con pedacitos de hígado fresco, gusanos cortados, etc., facilitándoles su salida a tierra (vivario).

Urodelos: Sus larvas, carnívoras, desde el primer momento se alimentan de pequeños animales acuáticos, componentes del plancton de agua dulce: infusorios, pequeños crustáceos (dafnias, cyclops, cypris, etc.). (Los infusorios y pequeños crustáceos, que se alimentan de algas unicelulares verdes, pueden colectarse y cultivarse fácilmente: por ej: (8) recogiendo agua de charca, o agua potable, a la que se agrega unas gotas de leche, colocado en un vaso y expuesta al sol, produce la llamada «agua verde» en la cual además de las algas verdes se desarrollan infusorios, y que sirven de alimentación y cultivo de los pequeños crustáceos que se quiera propagar, colocándolos en esta agua). Más tarde se alimentarán con presas mayores, como gusanos acuáticos (*Tubifex*), larvas de insectos (*Chironomus*), etc. Estas larvas se conservarán separadas de los adultos.

(8) A. Leutscher "Le Vivarium" trad. franc. Payot-1953.

CLAVE para la determinación de las LARVAS URODELOS (x)

- 1.—Con cresta dorsal 2
- Sin cresta dorsal; cola redondeada en su extremidad: diámetro del ojo mayor que la distancia entre la abertura nasal y el ojo *CHIOGLOSSA LUSITANICA* Boc.
Larva de cuerpo delgado y alargado; con las crestas caudales muy bajas. Su longitud total llega a 45 mm.
- 2.—Cresta dorsal extendida por toda o casi toda la long. del cuerpo 3
- Cresta dorsal extendida sobre menos de la mitad del cuerpo; cola muy obtusa o redondeada en su extremidad *EUPROCTUS ASPER* (Dugés).
Huevos bastante regularmente redondeados, depositados en el agua a una profundidad de 25 a 40 cm., aislados y adheridas a la cara inferior de las piedras; y de tamaño mayor que los de los *Triturus* (4,5 a 5 mm.); de color blanco amarillento rodeados de una cápsula gelatinosa muy resistente y transparente; su desarrollo embrionario dura casi un mes, alcanzando el huevo 9,5 mm. de longitud en su eje mayor. La larva al nacer mide 13,5 mm. y a su transformación (cerca de un año después) mide 50 mm.
- 3.—Cola puntiaguda 4
- Cola muy obtusa o redondeada en su extremidad; distancia entre las aberturas nasales mayor que la distancia entre la nariz y el ojo. *SALAMANDRA SALAMANDRA* (L.)
El nacimiento de las larvas se realiza en casi todo el año, pero principalmente en el verano en el agua de charcas o riachuelos en número de 10 a 30 y de 20 - 30 mm. de longitud; provistas de branquias externas, cortas y ramificadas, y extremidades bien desarrolladas. Su coloración es gris o rojiza con reflejos metálicos dorados o verdosos y manchas pardas distribuidas irregularmente; el vientre blanco o ligeramente anaranjado. Se alimentan de materias animales vivas o muertas. Se metamorfosean al cuarto mes,

(x) Modificada de la de Boulenger "Les Batraciens". Paris-1910.

en cuyo momento miden 50 mm. y su coloración presenta manchas amarillas, abandonando el agua. (Hallada en Alava, en San Vitor.)

- 4.—Cola muy puntiaguda, prolongada en filamento, con grandes manchas oscuras 5
- Cola algo puntiaguda pero no prolongada en filamento. 6
- 5.—Dedos muy afilados; el mayor igual, por lo menos, a la distancia entre la nariz y el ojo; 12 a 13 surcos verticales a cada lado del cuerpo, de los cuales 7 u 8 se extienden a través del vientre. TRITURUS MARMORATUS (Latreille).
La puesta de los huevos se realiza escalonadamente durante 3 o 4 meses, depositando durante este tiempo 200 a 380 huevos, aislados o en pequeños paquetes. fijados a las plantas sumergidas, o sobre sus hojas replegadas después. Los huevos son de color verde pálido visibles a través de su cápsula transparente. Un segundo periodo de puesta puede ocurrir en el otoño. La larva a su eclosión mide 10 mm. creciendo rápidamente (40 mm. a las 6 semanas). La pérdida de las branquias (metamorfosis) ocurre a los 3 meses alcanzando 70 mm. de longitud. Es de color rojizo, mosqueado de pardo oscuro, con reflejos verdosos y el vientre blanco.
- El dedo más largo no sobrepasa a la distancia entre la nariz y el ojo. TRITURUS BOSCAE (Lataste).
- 6.—Altura de la parte muscular de la base de la cola, superior a la mayor altura de la cresta caudal. 7
- Altura de la parte muscular de la base de la cola inferior a la mayor altura de cresta caudal; dedos de las 4 extremidades largos y afilados, diámetro del ojo, menor que su distancia a la nariz. PLEURODELES WATLIT (Michaelles).
Esta especie vive bien en acuario donde permanece toda su vida acuática. Los huevos de cápsula gelatinosa grande y redondeada, son depositados aisladamente entre las plantas acuáticas. La larva se metamorfosea en 3-4 meses, midiendo el joven hasta 80 mm.

- 7.—Diámetro del ojo, igual o un poco menor que la distancia internasal, o la naso-ocular . . . TRITURUS ALPES-
[TRIS (Laurenti).

La oviposición tiene lugar ya desde mediados de marzo, pudiendo interrumpirse y comenzar nuevamente en junio. Los huevos son de color gris pardo claro, de 1,5 a 1,7 mm. de diámetro. Las larvas a la eclosión miden 7 a 8 mm; su cresta dorsal y caudal manchadas de negro, mientras el tinte del dorso es pardo con dos bandas oscuras. Esta coloración se modifica en el curso de la vida larval, para llegar a ser pardo oliva claro con reflejos argentados sobre el vientre y los flancos. A los 15 días la larva mide 21 mm. a las siete semanas, 40 mm. y a los tres meses final del período larval, el joven tritón mide de 40 a 78 mm. Son frecuentes los casos de neotenia (parcial) en los que habitan a grandes altitudes.

- Diámetro del ojo, mayor que la distancia internasal o la naso-ocular. TRITURUS HELVETICUS (Razoumowsky) .

Los huevos de 1,5 mm. de diámetro, son ovalares, transparentes y de color pardo. La eclosión se realiza a los 4 meses, midiendo la larva en este momento 25 a 29 mm. de longitud, de los cuales corresponde a la cola más de la mitad; sus miembros desarrollados, son delgados y la cola fuertemente acuminada en su extremidad. A las seis semanas mide 30 mm. y 38 mm. a los dos meses. Su coloración es gris rojiza pálida por encima y blanca por debajo, con una línea longitudinal oscura en medio del vientre y pecho. Se metamorfean a los 3-4 meses.

CLAVE para la determinación de las larvas de ANUROS (x)

- 1.—Espiráculo y ano, situados en la línea media ventral. Series dentales en n.^o2/3; cada serie en dobles o triples filas de dientes (discoglósidos). 2
- Espiráculo situados a la izquierda de la línea media. Dientes labiales dispuestos en fila sencilla en cada serie

(x) Modif. de la de F. Angel en "Fauce de France - Reptiles et amphibiens"—1946.

- 2.—Abertura del espiráculo situada a la mitad de distancia de la longitud del cuerpo. Cola 3,5 a 4 veces más larga que alta. Las membranas caudales observadas con la lupa, muestran una pigmentación parda que forma una red de polígonos DISCOGLOSSUS PICTUS Ott.

Cada puesta consta de 300 a 1.000 huevos pequeños (1 a 1,5 mm. de diámetro) cubiertos de una cápsula gelatinosa (de 3 a 4 mm. de diámetro) colocados aisladamente: su desarrollo es rápido (2 a 20 días). A su eclosión la larva mide unos 3 mm. durando el período larval 30 a 60 días según las circunstancias. El renacuajo no pasa de 35 mm. de long.; en sus primeros estados tiene un color pardo uniforme por encima, y blanco grisáceo en el vientre. Antes de la terminación de su metamorfosis la coloración se aclara, distinguiéndose manchas pardo oscuras en su parte superior. El joven discogloso mide 8 a 11 mm. al salir a tierra.

- Abertura del espiráculo (al final del crecimiento) situado ligeramente delante de la parte media del cuerpo. Cola $1\frac{1}{2}$ veces la long. del cuerpo y 2,5 a 3 veces más larga que alta; y redondeada en su extremidad. Membranas caudales sin líneas entrelazadas, no extendida sobre el dorso. Color pardo rojizo manchado de pardo y vientre gris claro ALYTES OBSTETRICANS (Laurenti).

La hembra deposita en tierra los huevos en dos cordones de 7 cm. de longitud y con unos 50-100 huevos en total, de 3 a 4 mm. de diámetro, unidos unos a otros por un filamento gelatinoso. El macho recoge y arrolla estos cordones alrededor de sus talones y a veces recibe otros cordones procedentes de diferente acoplamiento. Los huevos son humedecidos de tiempo en tiempo hasta el momento de su eclosión dentro del agua; unas tres semanas después de la puesta. Los racimos de huevos vacíos, como pequeñas bolitas de caucho permanecen en el agua incorruptibles por mucho tiempo. La larva al nacer mide 1,5 cm., nada ágilmente, se alimenta y respira el aire libre: normalmente crece hasta 40 cm. y se metamorfosea al cuarto mes: pero en nuestro país alcanzan 80 a 90 mm. de longitud permaneciendo en el agua uno o dos años sin metamorfosearse.

- 3.—Ano situado en la línea media 4
 —Ano situado a la derecha de la membrana caudal. Espiráculo dirigido hacia arriba y atrás. Labio inferior de borde franjeado 7
- 4.—Dientes en 4/4 o 5/5 series labiales. (Pelobatidae) 5
 —Dientes labiales sobre 2/3 series. Espiráculo dirigido recto hacia atrás. Cola redondeada en su extremidad, no adelantándose sobre la espalda. Cuerpo muy pequeño. Color negruzco o negro (Bufo) 6
- 5.—Pico blanco bordeado de negro. Cola casi 2 veces más larga que el cuerpo de terminación obtusa. Color parduzco o rojizo manchado de pardo: vientre casi puro; garganta blanco-amarillenta . . . PELODYTES PUNCTATUS (Daudín). (V. Munibe, 1953, pág. 231).
- Pico enteramente negro. Cola vez y media más larga que el cuerpo, terminada en punta aguda. . .PELOBATES [CULTRIPES (Cuvier).
 Huevos en gruesos cordones arrollados a las plantas acuáticas. Sus larvas alcanzan un tamaño considerable, el mayor de nuestros renacuajos.
- 6.—Boca tan ancha como el espacio interocular; éste 2 veces mayor que la distancia comprendida entre las narices; la 2.^a serie de dientes labiales superiores, muy cortamente interrumpida en el centro. Cola 1,5 a 2 veces más larga que el cuerpo BUFO BUFO (L.)
 La puesta se realiza en 2 cordones paralelos. Los huevos pequeñas y negros, en n.º de 2.000 a 7.000 por hembra, miden 1,5 a 2 mm. La eclosión tiene lugar del 12.º al 18.º día según la temperatura, y un mes más tarde comienzan a aparecer las patas posteriores. A los 4 días de desarrolladas las posteriores salen las anteriores. Las larvas miden 32 mm. como máximo, de los cuales 20 mm. corresponden a la cola, y los pequeños sapos al dejar el agua miden 1 cm., del hocico al ano, conservando aún un vestigio de cola.
- Boca más estrecha que el espacio interocular; éste 2 veces mayor que la distancia internasal; la segunda serie de los

dientes labiales superiores ampliamente interrumpida en medio. Cola redondeada en la extremidad, su borde superior un poco estado hacia atrás. . BUFO CALAMITA, Laurenti.

Puesta en dos cordones de 3.000 a 4.000 huevos en total; de 1 a 1,5 mm. de diámetro. La eclosión tiene lugar al 5.º o 6.º día. Larva pardo rojiza oscura por encima, que no pasa de 20 a 30 mm. de longitud total. La más pequeña de Europa. Metamorfosis, 6 a 8 semanas después de la eclosión: el joven sapito mide 10 a 15 mm. al salir a tierra.

7.—Año que desemboca encima del borde inferior de la cola. Ojos laterales, visibles por encima y por debajo. Dientes labiales en $\frac{2}{3}$ series. Cresta dorsal que comienza casi al nivel de los ojos. Cola terminada en punta fina; 2 y $\frac{1}{2}$ veces más larga que alta HYLÁ ARBOREA (L.)

Huevos en pequeños paquetes del tamaño de una nuez, en N.º de 800 a 1.000 y de 1,5 mm. de diámetro de color pardo grisáceo en su hemisferio superior y amarillo claro en el inferior. La larva sale del huevo 12 a 15 días después de la puesta, y mide 5 a 8 mm. Puede alcanzar 40 mm., de los cuales 33 pertenecen a la cola, y se metamorfosean unos tres meses después de la eclosión. Las ranitas al dejar el agua miden 13 a 18 mm.

—Año que desemboca sobre el borde inferior de la cola. Ojos súperos. Cresta comienza al nivel del espiráculo. (Rana). 8

8.—Dientes labiales dispuestos en $\frac{3 \text{ a } 5}{4}$ series. (Ranas rojas). 9

—Dientes dispuestos sobre $\frac{2 \text{ ó } 3}{3}$ series, (ranas verdes). Cola terminada en punta aguda; 2 veces más larga que el tronco. Espacio interorbital 2 veces mayor que la distancia internasal y mucho mayor que la anchura de la boca. RANA RUDIBUNDA, Pallas.

Huevos en grandes montones en n.º de 5.000 a 10.000, que caen al fondo y no flotan nunca. De 1 a 1,5 mm. de diámetro, de color pardo en su hemisferio superior y amarillo claro en el inferior; su cubierta gelatinosa menor que los de la rana temporaria. Eclosión al 5.º o 7.º día; midiendo la larva 5 a 6 mm., que está provista de cola y branquias externas; alcanza

por término medio 40 a 45 mm. aunque algunas pueden medir mucho más: dorso de color pardo, rojizo o amarillento, flancos rojizos o cupreos y vientre blanco cercado de azul. Se metamorfosean a los 3 o 4 meses, midiendo la joven rana 18 a 20 mm.

9.—Sin tubérculo negruzco sobre la mandíbula superior. Cola terminada en punta obtusa; 1,5 a 2 veces la longitud del cuerpo.

10

—Un tubérculo negruzco en la línea media, encima de la mandíbula superior. Cola terminada en punta aguda; y 3 veces más larga que el tronco. Roca dos veces más ancha que el espacio interorbitario, que representa dos veces la distancia internasal. . RANA DALMATINA, Bonaparte.

Puesta en agua bastante profunda en masas de 600 a 1.000 huevos no flotantes: de 2 a 3 mm. de diámetro con el polo superior pardo negruzco y el inferior blanquecino. El renacuajo alcanza 38 a 60 mm. La metamorfosis a los dos o dos y medio meses midiendo la joven rana 15 a 20 mm.

10.—Anchura de la boca menor que el espacio interocular que representa vez y media la distancia internasal . RANA [TEMPORARIA L.

La puesta puede comenzar en Enero, en grandes montones de 1.500 a 4.000 huevos, de 2 a 3 mm. de diámetro y de color negro en casi su totalidad: su cubierta gelatinosa alcanza 1 cm. de diámetro; caen primero al fondo pero después de su imbibición suben a la superficie. La eclosión tiene lugar a las 3-4 semanas, midiendo las larvas 6 a 8 mm. Los renacuajos no pasan normalmente de los 45 mm. La transformación tiene lugar a los tres meses, aunque algunos permanecen sin metamorfosearse hasta la primavera siguiente.

—Anchura de la boca menor que el espacio interocular y éste igual a dos veces la distancia internasal. . RANA [IBERICA, Boulenger.

Huevos semejantes a los de la temporaria, pero menos numerosos, y no flotantes. El renacuajo alcanza 50 mm. y se transforma a los tres meses.