BOL. SOC. BIOL. DE CONCEPCION, TOMO XLVIII, pp. 127-146, 1974

TABLA DE DESARROLLO NORMAL DE RHINODERMA *DARWINI* (CONCEPCION)

POR

BORIS JORQUERA, EMILIO PUGIN y OSCAR GOICOECHEA

RESUMEN

El desarrollo de *Rhinoderma darwini* recolectado en la provincia de Concepción, tiene particularidades distintas a aquellas descritas en nuestra tabla de desarrollo de *Rhinoderma darwini* Duméril y Bibron, 1841 realizada con material recolectado en la provincia de Valdivia.

El desarrollo de *Rhinoderma darwini* de Valdivia, es de tipo directo. La última parte del período embrionario y toda la metamorfosis, transcurren en el interior de la bolsa gutural del macho. En ambos períodos del desarrollo, se destaca la ausencia de: branquias externas, pliegue opercular, sifón, dientecillos córneos, membrana interdigital y tubérculos digitales. Aleta caudal poco desarrollada.

El desarrollo de *Rhinoderma darwini* de Concepción, es de tipo intermedio. La última parte del período embrionario y los primeros estados de la metamorfosis transcurren en la bolsa gutural del macho; pero el resto de la metamorfosis se completa en medio acuático. En ambos períodos del desarrollo, se destaca la presencia de: branquias externas, pliegue opercular, sifón, boca larvaria con pico y dientecillos córneos, membrana interdigital y tubérculos digitales. Aleta caudal bien desarrollada.

Estas modificaciones, son evidentemente adaptativas a las diferentes condiciones ambientales de desarrollo en dos latitudes del país; y por lo tanto sugerimos considerar a *Rhinoderma darwini* de la provincia de Concepción como subespecie o nueva especie.

ABSTRACT

The development of *Rhinoderma darwini* collected in the province of Concepción show different characteristics from those that had been previously collected in Valdivia.

The development of *Rhinoderma darwini* in Valdivia is of a direct type. The last part of the embryonary period and all its metamorphosis take place inside the male guttural pouch. In both periods the absence of external gills, opercular fold, spiracle, horny teeth, interdigital membrane and toe pads, was noticed. The tail fin is not well developed.

The development of *Rhinoderma darwini* in Concepción is of an intermediate type. The last part of the embryonary period and the first stages of the metamorphosis take place inside the male guttural pouch. The rest of the meta-

morphosis is completed in an aquatic environment. In both periods of development, external gills, opercular fold, spiracle, larval mouth with horny beak and horny teeth, interdigital membrane and toe pads, were present. The tail fin is well developed.

These modifications evidently show the *Rhinoderma darwini's* adaptability to dissimilar environmental conditions of development in two different latitudes of the country; therefore we suggest that the *Rhinoderma darwini* from the province of Concepción should be considered as a sub species or new species.

INTRODUCCION

Rhinoderma darwini Duméril y Bibron, 1841 habita en el Sur de Chile desde Ñuble hasta Chiloé (Cei, 1962). Fue encontrado por Darwin durante la expedición del Beagle (1835) y descrito por primera vez por Duméril y Bibron (1841).

A pesar de que algunas referencias sobre su clasificación taxonómica, en los grupos familia y sub-familia, son controvertidas (Griffiths, 1959; Cei, 1962; Lynch, 1971; Barrio y Rinaldi, 1971; Veloso *et al* 1973), se considera a *Rhinoderma darwini* como especie única del género *Rhinoderma.*

Gay, (1848); Espada, (1872); Howes, (1888); Burger, (1905); Barros, (1918); Wilhelm, (1927 y 1932); Pflaumer, (1935); Noble, (1954) y Cei, (1962); se refieren a la biología de *Rhinoderma* y de una manera muy particular a su desarrollo larvario dentro de la bolsa gutural del macho. Jorquera *et al* (1972), elaboran la tabla del desarrollo de *Rhinoderma darwini,* con material recolectado en la provincia de Valdivia. Este desarrollo es directo y se le divide en un período embrionario, y un período de metamorfosis; estableciéndose como límite entre ambos, la aparición del esbozo de los miembros posteriores. La primera parte del período embrionario transcurre en el medio externo sobre terreno húmedo y posteriormente los embriones son incorporados a la bolsa gutural del macho, donde permanecen hasta completar la metaformosis.

Las observaciones sobre el desarrollo embrionario y la metamorfosis, señalan ciertas particularidades consideradas como adaptativas a la normal condición de dependencia paterna en medio no acuático.

Recientemente, la observación del desarrollo de *Rhinoderma darwini* recolectado en la provincia de Concepción señala particularidades distintas a nuestra tabla original, lo que nos ha llevado a la elaboración de una segunda tabla de desarrollo y a plantear los aspectos comparativos más importantes entre ambos esquemas de desarrollo.

MATERIAL Y METODO

Los animales adultos y las larvas en diferentes estados de metamorfosis fueron recolectados en la provincia de Concepción durante los meses de primavera y verano.

El material para la observación de los períodos que denominamos embrionario y de metamorfosis, fue obtenido en distinta forma para cada caso.

Para el estudio del período embrionario se esperó ovulación espontánea y fecundación en terrarios especialmente acondicionados. Los huevos fecundados fueron cultivados a 18ºC sobre un lecho de algodón empapado en solución Holtfreter al 10%.

Para el estudio de la metamorfosis, los primeros estados de este período fueron encontrados en la bolsa gutural del macho y luego cultivados a 18ºC en solución Holtfreter al 10%, con adición de *Elodea canadensis,* que además de oxigenar el medio, servía de alimento a los embriones. Como el desarrollo de estos embriones era considerablemente lento y hacía presumir un largo período de metamorfosis, el resto de los estados fue recolectado al estado libre en su habitat natural y luego se procedió a clasificarlos de acuerdo a los criterios generales establecidos en nuestra primera tabla, y que corresponden a normas habituales para elaborar tablas de desarrollo en anuros.

DESCRIPCION DE LA TABLA

PERIODO EMBRIONARIO.

Describiremos el período embrionario como aquel comprendido desde la fecundación, hasta la aparición del esbozo de los miembros posteriores.

Estado 1. Oocito 0 horas.

La superficie del oocito es pigmentada de color gris oscuro jaspeado en el hemisferio animal y blanco amarillento en el hemisferio vegetativo. El polo animal presenta una zona despigmentada de 0,2 a 0,3 mm de diámetro, donde se observa un punto oscuro. Esta zona corresponde a la eliminación del corpúsculo polar.

Los oocitos miden 2,4 mm de diámetro promedio y están envueltos por una doble cápsula de gelatina de 1,1 a 1,5 mm de espesor. Son puestos en "clusters" de 12 a 24 oocitos.

Estado 2. Segmentación inicial. 0 horas a 11,30 horas.
Desde la fecundación, hasta que se completa el cuarto "set" de segmentación.

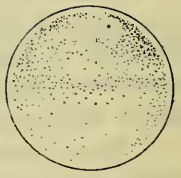
El primer surco, meridional, se inicia en el polo animal 4 horas después de la fecundación.

El segundo surco, también meridional, aparece a las 7,30 horas, poco después que se completa el primero.

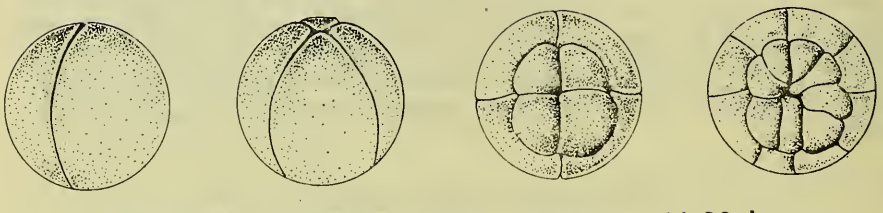
El tercer "set" de surcos aparece a las 8,45 horas como hen diduras perpendiculares al primero y segundo surco, que llevan a la

EMBRIOGENESIS DE
Rhinoderma darwini

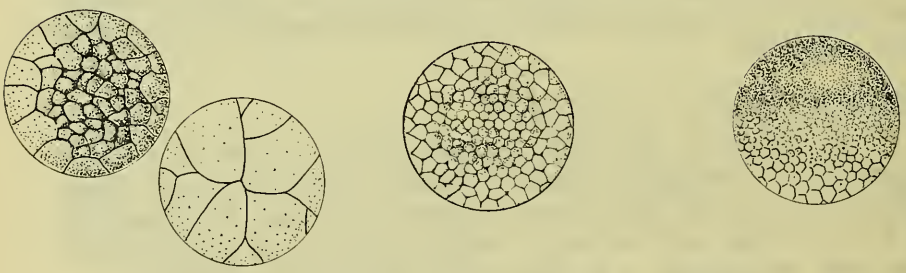
Concepcion 1mm 18° C.



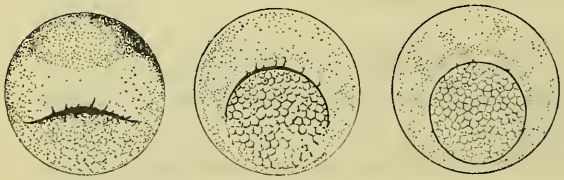
1. OOCITO 0 horas.



2. SEGMENTACION INICIAL. 0 horas a 11,30 horas.



3. SEGMENTACION AVANZADA. 11,30 horas a 54 horas.



4. GASTRULACION INICIAL.
54 horas a 72 horas.

5. GASTRULACION AVANZADA.
72 horas a 92 horas.

formación de un estado de 8 blastómeras: 4 pequeñas en el polo animal y 4 voluminosas en el polo vegetativo.

El cuarto "set" de surcos se inicia a las 10,30 horas, dividiendo primero las blastómeras del polo animal y luego las blastómeras del polo vegetativo, hasta completar un estado de 16 blastómeras a las 11,30 horas.

ESTADO 3. Segmentación avanzada. 11,30 horas a 54 horas.
Desde que se completa el cuarto "set" de segmentación, hasta la aparición del labio dorsal del blastoporo.

Luego del estado de 16 blastómeras, la pérdida del sincronismo en la aparición de los surcos no permite precisar una regularidad en el número y disposición de las blastómeras. Las divisiones prosiguen en forma irregular y notablemente aceleradas en el polo animal, lo que conduce a la formación de blastómeras pequeñas a este nivel y muy voluminosas en el polo vegetativo. A medida que avanza la segmentación, por debajo del área pigmentada del hemisferio animal, aparece una ancha banda ecuatorial de color gris, que se aclara gradualmente hacia el polo vegetativo donde aún se perciben las macrómeras cargadas de vitelo. En esta zona de transición, a las 54 horas, aparece la hendidura del labio dorsal del blastoporo, señalando el término del estado.

ESTADO 4. Gastrulación inicial. 54 horas a 72 horas.
Desde que aparece el labio dorsal, hasta que se completa el blastoporo.

La hendidura del blastoporo se arquea en dirección ventral, hasta completar un círculo de 1,5 mm de diámetro, que encierra el área de las macrómeras del polo vegetativo.

ESTADO 5. Granulación avanzada. 72 horas a 92 horas.
Desde que se completa el blastoporo, hasta que aparece la placa neural.

Mientras ocurre la constricción del blastóporo, desaparece la diferencia de pigmentación entre el área obscura del hemisferio animal y la banda gris ecuatorial; por lo que toda la superficie del epiblasto adquiere un aspecto más homogéneo.

ESTADO 6. Placa neural. 92 horas a 103 horas.
Desde que aparece la placa neural, hasta que se inician los pliegues neurales.

Cuando el blastoporo mide 0,1 a 0,2 mm de diámetro, se esboza la placa neural como una zona más clara, en forma de raqueta ensanchada en su extremo cefálico. Desde su extremo estrecho se insinúa levemente la depresión del surco neural.

Estado 7. Pliegues neurales. 103 horas a 109 horas.
Desde que se inician los pliegues neurales, hasta que se adosan en toda su longitud.

En el borde de la placa neural, se eleva el repliegue marginal de los pliegues neurales, que progresivamente van delimitando un surco neural estrecho en sus dos tercios caudales y ensanchado en el tercio cefálico.

A medida que prosigue el levantamiento de los pliegues neurales, se alarga y estrecha el extremo anterior del surco neural y los pliegues se aproximan entre sí; primero a nivel del tercio medio o posterior, y luego hacia adelante, dejando temporalmente abierto el neuroporo anterior.

Durante el desarrollo de los pliegues neurales, se produce un aplastamiento de la región dorsal del embrión, que modifica la forma hasta entonces esférica de éste. La línea del dorso describe hacia adelante una pronunciada curvatura, sobre la que se flecta el surco neural. El extremo caudal también se flecta, aunque en forma menos acentuada.

Estado 8. Tubo neural. 109 horas a 137 horas.
Desde que los pliegues neurales se adosan en toda su longitud, hasta que aparece el brote caudal.

Se cierra el neuroporo anterior, completándose la fusión de los pliegues neurales. Mientras sucede ésto, se proyecta hacia adelante la región cefálica, en la cual aparece la depresión del estomodeo y el relieve de las placas branquiales. El extremo caudal se eleva dorsalmente.

Más tarde, aparece un surco sobre cada placa branquial y se hace notable la presencia del brote caudal. La proyección del extremo cefálico y el desarrollo del brote caudal, producen la elongación del eje embrionario, que al término del estado alcanza un promedio de 3 mm.

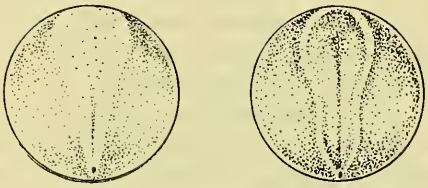
Estado 9. Brote caudal. 137 horas a 167 horas.
Desde la presencia del brote caudal, hasta que se aprecia la respuesta muscular.

Durante este estado se aprecia externamente el límite entre las vesículas encefálicas anterior y media. Las placas branquiales son prominentes y la aparición de un nuevo surco sobre ellas, las subdivide en tres pliegues paralelos. Por detrás del tercer pliegue se destaca el relieve del pronefros (los pliegues se numeran de 1 a 3 en sentido céfalo caudal).

El eje embrionario continúa alargándose, fundamentalmente a expensas de la cola, y al término del estado alcanza una longitud total de 3,9 a 4,2 mm.

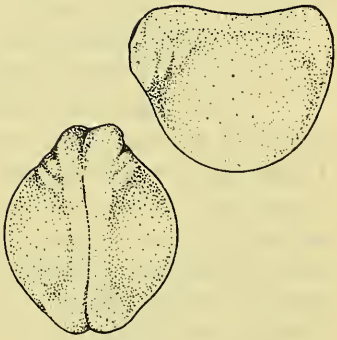
6. **PLACA NEURAL.**

92 horas a 103 horas.



7. **PLIEGUES NEURALES.**

103 horas a 109 horas.



8. **TUBO NEURAL.**

109 horas a 137 horas.

9. **BROTE CAUDAL.**

137 horas a 167 horas.

Estado 10. Respuesta muscular. 167 horas a 187 horas.
Desde que aparece la respuesta muscular, hasta que se aprecia latido cardíaco.

La respuesta muscular se manifiesta por movimientos de lateralidad, que se producen primero frente a estímulos mecánicos y más tarde se hacen espontáneos.

Se acentúan los tres relieves de las placas branquiales. Por encima del primer relieve hacen prominencia las cápsulas ópticas y en ellas se distingue una leve pigmentación coroídea. Por delante del esbozo óptico se sitúan las fositas olfativas.

La longitud promedio alcanzada por los embriones durante el estado es de 6 mm, de los cuales 3 mm corresponden a la cola, medida esta última desde la abertura anal.

Estado 11. Circulación. 187 horas a 215 horas.
Desde que se aprecia latido cardíaco, hasta que se observa circulación caudal.

Casi simultáneamente con la aparición del latido cardíaco, se esboza el primer brote branquial sobre el segundo pliegue branquial. Luego aparece un segundo brote branquial a nivel del tercer pliegue branquial y el primer brote se subdivide en dos yemas. En este momento aparece la circulación branquial. Eventualmente el segundo brote branquial también se subdivide en dos pequeñas yemas. El primer pliegue de la placa branquial desciende por el costado del cuello y constituye el esbozo del pliegue opercular.

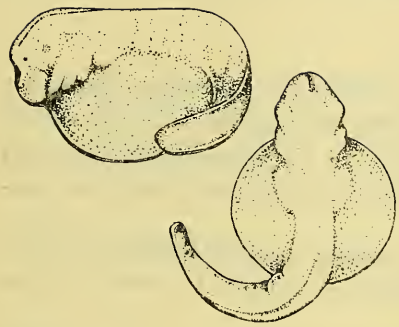
Poco después de la aparición de la circulación branquial, se produce la ruptura de la membrana buco-faríngea. En la cola hay diferenciación de aletas dorsal y ventral y a las 215 horas se observa la circulación caudal.

El embrión alcanza un largo total de 7 a 7,5 mm, de los cuales 4,3 corresponden a la cola.

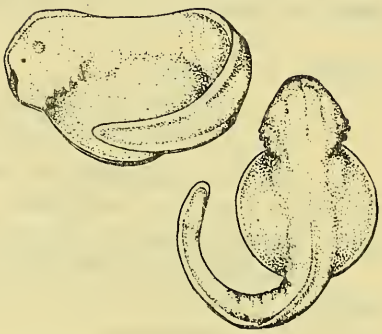
Estado 12. Cierre de los opérculos. 215 horas a 321 horas.
Desde que se inicia la circulación caudal, hasta que los pliegues operculares se cierran sobre los brotes branquiales y aparece el esbozo de los miembros posteriores.

Los pliegues operculares no alcanzan a reunirse ventralmente y se desplazan en sentido caudal cubriendo los brotes branquiales. Primero se produce el cierre completo en el lado derecho y algo más tarde en el lado izquierdo, permaneciendo a este costado la abertura sifonal.

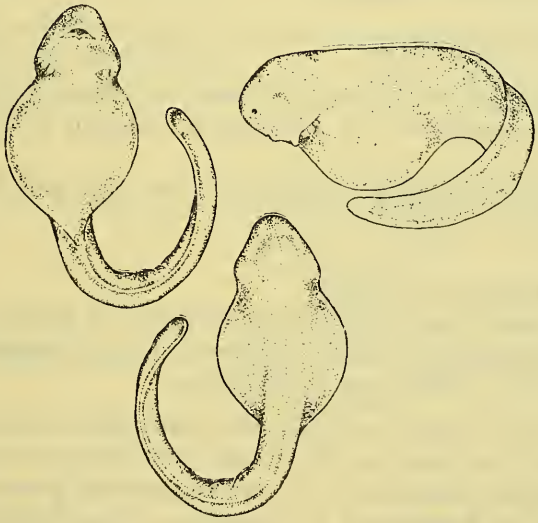
El término del estado está señalado por la aparición del esbozo de los miembros posteriores y en ese momento los embriones miden 8 a 8.5 mm de longitud, de los cuales 4,9 corresponden a la cola.



10. RESPUESTA MUSCULAR.
167 horas a 187 horas.



11. CIRCULACION.
187 horas a 215 horas.



12. CIERRE DE LOS OPERCULOS.
215 horas a 321 horas.

PERIODO DE METAMORFOSIS.

Describiremos el período de metamorfosis como aquel comprendido desde la aparición del esbozo de los miembros posteriores, hasta la desaparición de la cola.

Estado 1. Desove.
Desde la aparición del esbozo del miembro posterior hasta que su longitud alcanza a la mitad de su diámetro.

Durante el curso de este estado, se circunscribe la abertura del sifón y en los embriones cultivados en solución Holtfreter empieza espontáneamente el desove.

La cloaca se prolonga bajo el borde ventral de la cola. Por delante y encima de esta prolongación, se sitúa el esbozo de los miembros posteriores.

La longitud promedio del estado es de 10 mm, de los cuales 5,7 mm corresponden a la cola, medida desde la abertura anal.

Estado 2. Papilas labiales.
Desde que la longitud del esbozo del miembro posterior es igual a la mitad de su diámetro, hasta que la longitud iguala al diámetro.

El desove, iniciado en el estado anterior culmina durante este estado.

En el margen de la cavidad bucal, se elevan formaciones labiales de bordes papilares. La prolongación cloacal se dilata progresivamente.

La longitud promedio del estado es de 12,5 mm, de los cuales 7,5 corresponden a la cola.

Estado 3. Dientecillos córneos.
Desde que la longitud del esbozo de miembro posterior es igual a su diámetro, hasta que la longitud alcanza a una y media vez su diámetro.

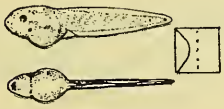
En la boca hacen aparición los dientecillos córneos y el pico córneo. En el labio superior, los dientecillos córneos se disponen en una serie anterior continua y dos series laterales posteriores. En el labio inferior, los dientecillos se disponen en tres series lineales continuas.

Se acentúa la dilatación de la prolongación cloacal y su abertura externa.

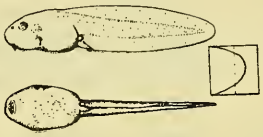
La longitud promedio del estado es de 18,5 mm, de los cuales 11 mm corresponden a la cola.

METAMORFOSIS DE Rhinoderma darwini

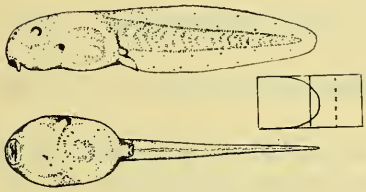
Concepcion 4mm



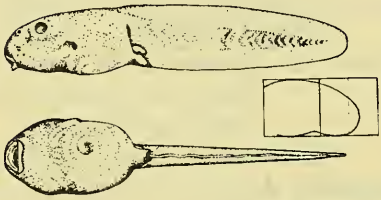
1 DESOVE



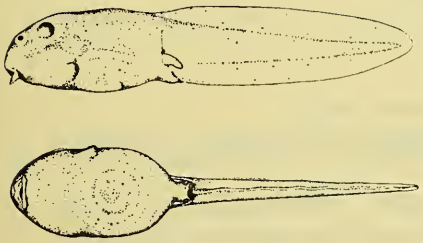
2 PAPILAS LABIALES



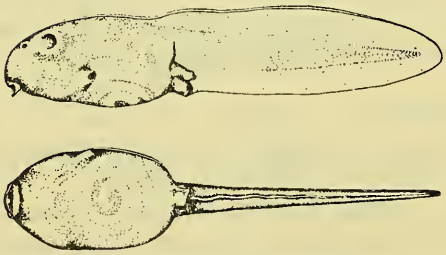
3 DIENTECILLOS CORNEOS



4 CURVATURA VENTRAL DEL MIEMBRO



5 MIEMBRO EN FORMA DE PALA DE REMO



6 PRESENCIA DEL QUINTO DEDO

ESTADO 4. Curvatura ventral del miembro.
Desde que la longitud del miembro posterior es igual a una y media vez su diámetro, hasta el aplanamiento de su extremo distal.

Una ligera escotadura ventral del miembro posterior esboza el límite del futuro segmento autopodal, el cual, hacia el término del estado se aplana en sentido lateral.

La longitud promedio del estado es de 20,5 mm, de los cuales 12 mm corresponden a la cola.

Estado 5. Miembro en forma de "pala de remo".
Desde el aplanamiento del extremo distal del esbozo del miembro posterior, hasta la aparición del quinto dedo.

Una nueva escotadura sobre el borde dorsal del miembro indica con precisión el límite del autopodo, el cual durante este estado se presenta aplanado, caracterizando la típica forma de miembro en "pala de remo".

La longitud promedio del estado es de 24,5 mm, de los cuales 13,5 mm corresponden a la cola.

Estado 6. Presencia del quinto dedo.
Desde la aparición del quinto dedo, hasta la aparición del cuarto dedo.

En el borde del extremo distal del miembro, por detrás de la escotadura dorsal ya citada, aparece una primera escotadura interdigital individualizando el esbozo del quinto dedo.

Practicando una disección de la piel pigmentada de la región ántero-lateral del cuerpo (entre la abertura del sifón y el ojo), se deja al descubierto el esbozo de los miembros anteriores, en los cuales se observan los primeros brotes digitales.

La longitud promedio del estado es de 31,2 mm, de los cuales 15 mm corresponden a la cola.

Estado 7. Presencia del cuarto y quinto dedo.
Desde la aparición del cuarto dedo, hasta la aparición del tercer dedo.

Una segunda escotadura interdigital, individualiza el esbozo del cuarto dedo. Empieza a diferenciarse el segmento del zeugópodo.

La longitud promedio del estado es de 27 mm., de los cuales 15,5 mm corresponden a la cola.

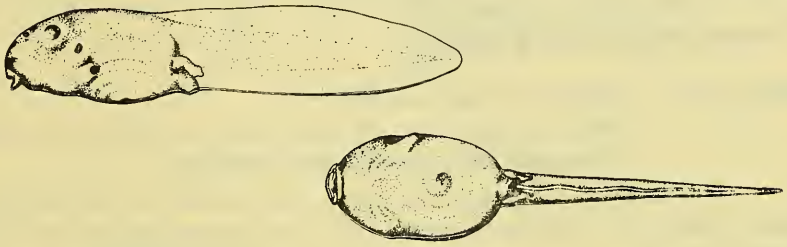
Estado 8. Presencia del tercero, cuarto y quinto dedo.
Desde la aparición del tercer dedo, hasta la aparición del segundo y primer dedo.

Una tercera escotadura interdigital separa al esbozo del tercer dedo. El segmento del zeugópodo, se flecta ligeramente hacia adentro, formando ángulo con el estilópodo.

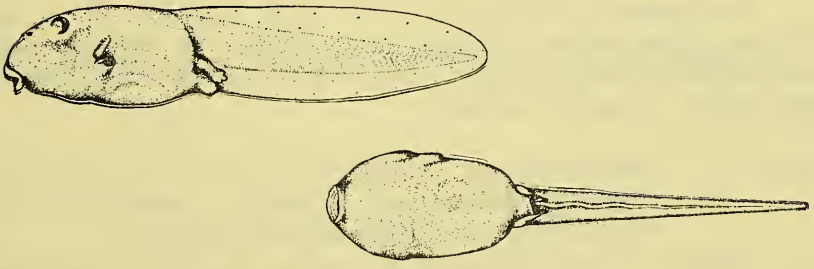
En los miembros anteriores (descendidos por delante y sobre el nivel del sifón) es posible observar los dedos a través de la piel.

La longitud promedio del estado es de 28,5 mm, de los cuales 16,2 mm corresponden a la cola.

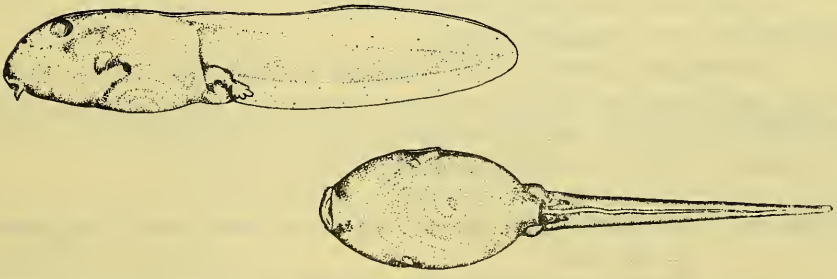
Estado 9. Presencia de los 5 dedos.
Desde la aparición del segundo y primer dedo, hasta la aparición del tubérculo metatarsal.



7 PRESENCIA DEL CUARTO Y QUINTO DEDO



8 PRESENCIA DE TERCERO , CUARTO Y QUINTO DEDO



9 PRESENCIA DE LOS CINCO DEDOS

Una cuarta escotadura interdigital separa los esbozos del segundo y primer dedo.

Los miembros anteriores descienden ligeramente bajo el nivel del sifón.

La prolongación cloacal alcanza su máximo volumen, con un diámetro de 1,5 mm y está ampliamente abierta al exterior.

La longitud promedio del estado es de 30 mm., de los cuales 17 mm corresponden a la cola.

ESTADO 10. Tubérculo metatarsal.
Desde la aparición del tubérculo metatarsal, hasta que desaparece la prolongación cloacal.

Por delante y ligeramente hacia adentro de la base del primer dedo, aparece el tubérculo metatarsal. Los miembros posteriores adquieren durante este estado notable desarrollo, aparecen las membranas interdigitales y son capaces de realizar movimientos natatorios.

El desarrollo de los miembros anteriores produce un ligero abultamiento de la región lateral del cuerpo, correspondiente a la región de las cámaras branquiales.

La dilatada prolongación cloacal decrece y desaparece hacia el término del estado.

La longitud promedio del estado es de 31,2 mm de los cuales 18,5 mm corresponden a la cola. Sin considerar la reducción de la prolongación cloacal, se observa que la longitud del cuerpo se mantiene similar al estado anterior.

ESTADO 11. Desaparición de dientecillos córneos.
Desde que desaparece la dilatación cloacal hasta que las extremidades anteriores salen al exterior.

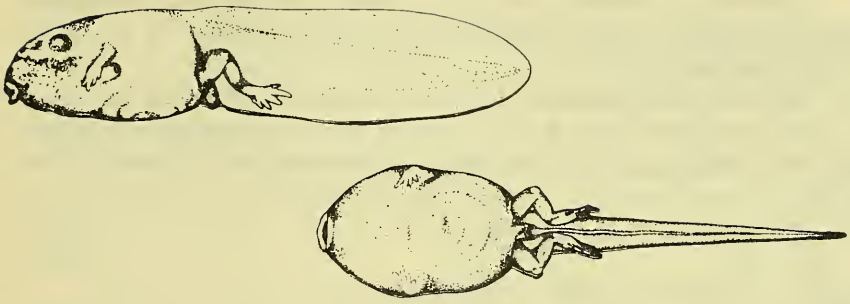
Durante la segunda mitad del estado, desaparecen los dientecillos córneos y la armadura ventral del pico córneo.

El ángulo de flexión del codo, en las extremidades anteriores, produce un marcado relieve bajo la piel de la región lateral del cuerpo.

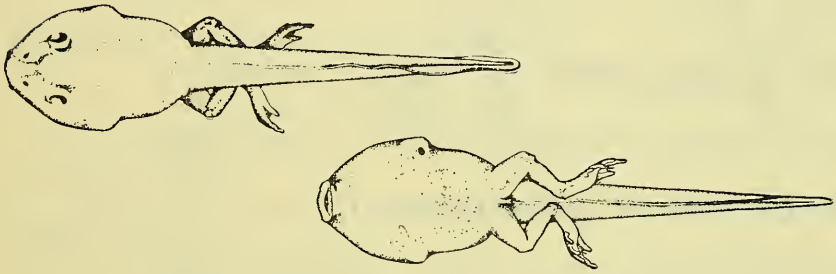
La notable disminución del contenido intestinal produce un decrecimiento del tamaño corporal.

La longitud promedio del estado es de 30,3 mm, de los cuales 19 mm corresponden a la cola. Si se considera la desaparición de la prolongación cloacal, resulta evidente que la longitud de la cola se mantiene similar al estado anterior.

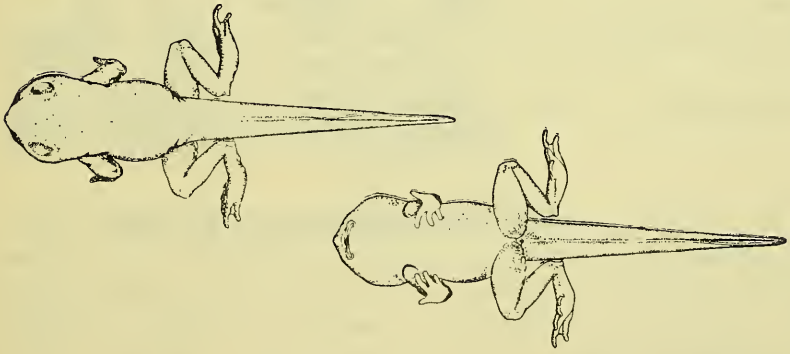
ESTADO 12. Exteriorización de los miembros anteriores y regresión de la cola I.
Desde que los miembros anteriores se exteriorizan, hasta que la longitud de la cola es igual a la longitud del cuerpo.



10 TUBERCULO METATARSAL



11 DESAPARICION DE LOS DIENTECILLOS CORNEOS



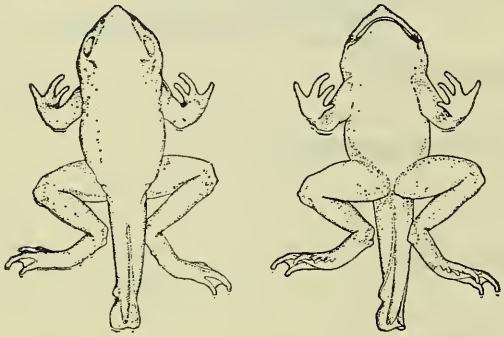
12 EXTERIORIZACION DE LOS MIEMBROS ANTERIORES Y REGRESION DE LA COLA . I.

Primero se produce la ruptura de la cámara branquial del lado izquierdo y luego la del lado derecho, quedando en libertad los miembros anteriores.

En la boca, persiste la armadura dorsal del pico córneo y las formaciones labiales se reducen a ligeros relieves ventrolaterales festoneados.

Durante la segunda mitad del estado, se observa dorsalmente la presencia del "cantus lateralis", el "cantus rostralis" y el esbozo de la prolongación nasal.

La longitud promedio del estado es de 26,5 mm, de los cuales 15,5 mm corresponden a la cola, la cual entra en regresión y al término del estado iguala la longitud del cuerpo en 11 mm de promedio.



13 **REGRESION DE LA COLA . II.**

14 **REGRESION DE LA COLA. III.**

15 **METAMORFOSIS COMPLETA.**

Estado 13. Regresión de la cola. II.
Desde que la cola es igual a la longitud del cuerpo, hasta que la cola es igual a la longitud de la pierna.

Se completa la fusión de la piel alrededor de la base de los miembros anteriores.

En la boca desaparecen el relieve labial festoneado y la armadura dorsal del pico córneo. La abertura de esta cavidad adquiere forma de arco, cuyos extremos alcanzan el nivel de la línea interpupilar.

En las extremidades posteriores son bien manifiestas las líneas glandulares y aparecen tubérculos digitales en los cinco dedos.

La longitud promedio del estado es de 19 mm, de los cuales 8 mm corresponden a la cola.

Estado 14. Regresión de la cola. III.
Desde que la cola es igual a la longitud de la pierna, hasta que desaparece.

La pigmentación se acentúa y empieza a aparecer el patrón de dibujo dorsal.

Las comisuras de la boca sobrepasan el nivel del ángulo posterior del ojo.

La longitud promedio del estado es de 14,5 mm, de los cuales 3,5 mm corresponden a la cola.

Estado 15. Metamorfosis completa.

La cola ha desaparecido, el aspecto externo del animal, con su patrón de dibujo generalizado, presenta las caractersticas generales del adulto, pero en tamaño reducido.

La longitud promedio, medida desde la prolongación nasal hasta el extremo caudal, es de 12 mm.

DISCUSION

Los criterios utilizados para subdividir los estados en la presente tabla, son similares a aquellos que fueron utilizados para elaborar nuestra primera tabla de desarrollo de *Rhinoderma darwini* Duméril y Bibron, recolectado en la provincia de Valdivia; y por lo tanto se facilita el reconocimiento de los aspectos comparativos más importantes entre ambos esquemas de desarrollo.

El desarrollo de *Rhinoderma* lo hemos dividido en períodos embrionario y de metamorfosis. El período embrionario es aquel durante el cual el embrión permanece encapsulado y el período de metamorfosis es aquel que se inicia con la aparición del esbozo de los miembros posteriores y termina con la desaparición de la cola. En la presente tabla, al igual que en la anterior resulta una ligera superposición de un período con otro, ya que el desove se produce durante los estados 1 y 2 de la metamorfosis.

Rhinoderma darwini Duméril y Bibron (Valdivia, Lat. 39º41'S; Long. 73º14'W) posee desarrollo directo, sin existencia de vida larvaria libre en medio acuático. El período embrionario dura 23 días, de los cuales los primeros 20 días transcurren en el medio externo, hasta que se produce respuesta muscular. En este momento los embriones encapsulados son incorporados a la bolsa gutural del macho, donde permanecen hasta completar la metamorfosis. Este último período dura 52 días.

Durante los períodos embrionario y de metamorfosis, se destacan las siguientes características morfológicas:

— oocitos grandes (4 mm).
— ausencia de branquias externas
— ausencia de pliegues operculares
— ausencia de sifón
— ausencia de pico y dientecillos córneos
— aleta caudal poco desarrollada
— ausencia de membrana interdigital
— ausencia de tubérculos digitales
— piel fina y muy vascularizada.

La presencia de estas características y la permanencia de las larvas en el interior de la bolsa gutural del macho, durante los últimos estados del período embrionario y todo el período de metamorfosis, nos llevaron a plantear la posibilidad de una relación trófica y respiratoria entre la bolsa gutural y la piel de las larvas. Estudios preliminares de la ultraestructura de la bolsa gutural del macho y la epidermis de las larvas, permiten afirmar que existe una importante relación trófica de tipo parenteral (Garrido *et al,* 1974).

Rhinoderma darwini (Concepción, Lat. 36º46'S; Long. 73º5'W) posee desarrollo de tipo intermedio, con vida embrionaria en medio no acuático y metamorfosis en medio acuático. La primera parte del período embrionario transcurre en el medio externo y cuando se produce respuesta muscular, los embriones encapsulados son incorporados a la bolsa gutural del macho, donde permanecen hasta alcanzar los estados 3 y 4 de metamorfosis. En este momento las larvas son expulsadas de la bolsa gutural y completan la metamorfosis en el medio acuático.

El período embrionario es notablemente más rápido que en los ejemplares de Valdivia. La diferencia de velocidad es especialmente acentuada en la segmentación y gastrulación, estados durante los cuales, la mayor cantidad de vitelo de los voluminosos oocitos de la especie de Valdivia, retarda el ritmo de las mitosis y dificulta los movimientos morfogenéticos. No fue posible controlar la duración del período de metamorfosis en larvas mantenidas en cultivo ya que a partir de los estados 4 y 5 se producía la casi detención del desarrollo.

Durante los períodos embrionarios y de metamorfosis, se observan numerosas características morfológicas diferentes de aquellas descritas para la especie recolectada en Valdivia, siendo las más importantes las siguientes:

— oocitos pequeños (2,4 mm)
— presencia de branquias externas, con circulación branquial
— presencia de pliegue opercular
— presencia de sifón
— presencia de boca larvaria con pico y dientecillos córneos
— aleta caudal bien desarrollada
— presencia de membrana interdigital en los miembros posteriores
— presencia de tubérculos digitales en los miembros posteriores.

Las branquias externas, a pesar de presentar circulación, parecen no tener función respiratoria ya que no están en contacto con el medio acuático; pero luego del cierre del opérculo, persiste al costado izquierdo un sifón que permite la respiración en medio acuático durante la metamorfosis. En este último aspecto existe similitud con *Batrachyla leptopus* Bell; *Batrachyla antartándica* Barrio y *Eusophus taeniatus* (Girard) que poseen también desarrollo de tipo intermedio, con vida embrionaria intracapsular terrestre y metamorfosis en medio acuático (Busse, 1971; Formas y Pugin, 1971; Cei y Capurro, 1958).

Durante el estado 3 de la metamorfosis se diferencia la boca larvaria (con pico y dientecillos córneos) que permite iniciar la alimentación por vía oral. La armadura bucal larvaria involuciona entre los estados 11 y 13 y la boca adquiere rápidamente su característica adulta durante los estados 14 y 15.

La existencia de un aparato bucal larvario bien desarrollado, que permite la alimentación durante la vida acuática, determina un aumento considerable de la longitud de las larvas, que en el estado 10 llega a ser igual al doble de la alcanzada por las larvas del mismo estado colectadas en Valdivia.

La actividad natatoria de los miembros posteriores se inicia en el estado 10, coincidiendo con la formación de la membrana interdigital. A partir del estado 13 se produce el apoyo de las extremidades y aparecen los tubérculos digitales en los miembros posteriores.

El análisis comparativo de las características morfológicas entre *Rhinoderma darwini* Duméril y Bibron (Valdivia) y *Rhinoderma darwini* colectado en Concepción, pone en evidencia particularidades adaptativas a la normal condición de desarrollo directo y total dependencia paterna en el primer caso; y de un tipo de desarrollo intermedio con dependencia paterna inicial y metamorfosis en medio acuático, en el segundo caso.

Estas modificaciones adaptativas del desarrollo, en dos latitudes diferentes, permiten sugerir la identificación de *Rhinoderma darwini* de la provincia de Concepción como subespecie o nueva especie.

Además de las diferencias morfológicas digitales, ya señaladas entre ambos esquemas de desarrollo, sería conveniente estudiar la posible existencia de otras diferencias estructurales o funcionales en individuos adultos, y realizar observaciones sobre sus límites de distribución.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la importante colaboración del Sr. Julio Pugin, Tecnólogo del Laboratorio, quien recolectó el material de *Rhinoderma darwini* en Concepción.

BIBLIOGRAFIA

Barrio, A., P. Rinaldi. 1971. Contribuciones al esclarecimiento de la posición taxofilética de algunos batracios Patagónicos de la familia Leptodactylidae mediante el análisis cariotípico. Physis. 30:673-685.

Barros, R. 1918. Notas sobre el sapito vaquero (Rhinoderma darwini). Rev. Chil. Hist. Nat., 22:71-75.

Burger, O. 1905. La neomelia de la Rhinoderma darwinii. D. & B. Santiago, Chile. Imprenta Cervantes.

Busse, K. 1971. Desarrollo de Batrachyla leptopus Bell con observaciones sobre su ecología y comportamiento. Inv. Zool. Chil. Vol. XV:5-64.

Cei, J. M. 1962. Batracios de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile. Santiago de Chile: 110-115.

Cei, J. M., L. Capurro. 1958. Biología y desarrollo de Eupsophus taeniatus (Girard). Inv. Zool. Chil. Vol. IV: 159-182.

Darwin, Ch. 1889. Journal of researches into Geology and Natural History of the various countries visited during the voyage of H.M.S. Beagle round the world. London. J. M. Deut & Sons Ltda.

Duméril, A. y G. Bibron. 1841. Hist. Nat. Rpt. T. 8, pág. 659.

Espada, de la J. M. 1872. Sobre la reproducción de Rhinoderma darwinii. Anales de historia natural. Madrid, España.

Formas, R., E. Pugin. 1971. Reproducción y desarrollo de: Batrachyla antartándica (Barrio). Bol. Mus. Nac. Hist. Nat. Chile. 32: 201-213.

Garrido, O., E. Pugin, B. Jorquera. 1974 (En prensa). Correspondance ultrastructural entre la bourse gutturale du Rhinoderma darwini et le téguments des embryons.

Gay, C. 1848. Historia Física y Política de Chile. Zool. II. 370 pp.

Griffiths, I. 1959. The phylogeny of Sminthillus limbatus and the state of the Brachycephalidae (Amphibia Salientia). Proc. Zool. Soc. London 132:457-487.

Howes, B. G. 1888. Notes on the broad-pouch of Rhinoderma darwini. Proc. Zool. Soc. London. 231-237.

Jorquera, B., E. Pugin, O. Goicoechea. 1972. Tabla de desarrollo normal de Rhinoderma darwini. Arch. Med. Vet., IV, 2: 5-19.

Lynch, J. D. 1971. Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of Leptodactyloid Frogs. Misc. Publ. Univ. Kansas Mus. Nat. Hist. 53:1-238.

Noble, G. 1954. The biology of the amphibian. Douer Publications, Inc. New York: 71, 74, 411 y 507.

Pflaumer, C. 1935. Observaciones biológicas acerca de la Rhinoderma darwinii. D. & B. Rev. Chil. Hist. Nat., 39:28-30.

Veloso, A., N. Díaz, R. Galleguillos. 1973. El cariotipo de Rhinoderma darwini. Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso. 6:57-61.

Wilhelm, O. 1927. La Rhinoderma darwinii D. & B. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción (Chile) Tomo I, Nos. 1 y 2: 11-39.

Wilhelm, O. 1932. Nuevas observaciones acerca de la neomelia de la Rhinoderma darwinii. Rev. Chil. Hist. Nat. 36:166-170.