

MORFOLOGÍA DE LAS ESPÍCULAS EN LAS ESPECIES DE LA FAMILIA DIDEMNIDAE (ASCIDIACEA) DEL LITORAL DE CATALUÑA E ISLAS BALEARES

X. TURON

Turon, X., 1986. Morfología de las espículas en las especies de la familia Didemnidae (Ascidiacea) del litoral de Cataluña e Islas Baleares. *Misc. Zool.*, 10: 213-222.

On the morphology of the spicules of the Didemnid (Ascidiacea) species from the shores of Catalonia and Balearic Islands.— The morphology of the spicules of 17 spicule-containing species of Didemnids from Catalonia and the Balearic Islands is studied by scanning electron microscopy. The analysis shows that the morphology and the number of rays of the spicules remains fairly constant within each species. The results of this work can be used to help in the classification of samples belonging to this family, from the studied and adjoining geographical zones.

Key words: Spicules, Morphology, Didemnids, NE Spain.

(Rebut: 4-XII-85)

Xavier Turon, Dept. de Biologia Animal, Fac. de Biologia, Univ. de Barcelona, Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona, Espanya.

INTRODUCCIÓN

La presencia de espículas calcáreas de forma estrellada en la túnica colonial de la mayoría de especies de la familia Didemnidae es conocida desde antiguo, atrayendo el interés de los especialistas ya desde el siglo pasado.

En relación al origen de estas espículas han existido dos hipótesis contrapuestas: para unos autores se forman en el interior de células especializadas; GIARD (1872), HERDMAN (1886) y WOODLAND (1907), entre otros, han formulado esta teoría. En cambio, para otros como PRENANT (1923, 1925), PÉRÈS (1947) y MONNIOT (1970) el origen es extracelular, debido a una precipitación producida por las condiciones físico-químicas en el interior de la túnica colonial.

Esta cuestión lleva ligada la del interés sistemático de las espículas. En efecto, si son formadas por acción biológica, intracelularmente, es razonable esperar que presenten peculiaridades específicas constantes en su morfología. Por el contrario, si se trata de un fenómeno puramente químico, las variacio-

nes observadas presumiblemente no tendrán significación taxonómica. No obstante, incluso algunos autores defensores del origen extracelular reconocen cierta especificidad en la forma de las espículas. Este es el caso de PRENANT (1925) que cuantifica el número de radios de las espículas de diferentes especies. Por el contrario, ELDREDGE (1966) no les reconoce ningún valor específico y MONNIOT (1970), aun negando todo valor sistemático, recomienda describirlas con exactitud pues pueden aportar datos ecológicos o biogeográficos.

Otro aspecto conflictivo ha sido el punto exacto donde se forman estas espículas. Ya desde antiguo los especialistas han advertido la presencia de grupos de espículas de pequeño tamaño en los llamados órganos torácicos laterales (O.T.L.), situados a ambos lados de la branquia de los zooides. VAN NAME (1945) y otros autores anteriores, sintetizados por KNIPRATH & LAFARGUE (1980), adoptan la hipótesis de que dichos órganos son los encargados de la producción de espículas. Sin embargo, PÉRÈS (1947) afirma que su función es

la producción de túnica, y que la presencia de espículas se debe a que en esos puntos se dan las condiciones que favorecen la precipitación del carbonato cálcico, sin excluir que puedan formarse en otros puntos de la túnica.

Tras los estudios de LAFARGUE (1968, 1977) sobre los didémnidos de las costas de Francia, LAFARGUE & KNIPRATH (1978) llegan a la conclusión de que todas las especies que presentan espículas tienen O.T.L., y viceversa. Igualmente, mediante imágenes secuenciales LAFARGUE & KNIPRATH (1978) y KNIPRATH & LAFARGUE (1980) estudian la aparición de espículas en el oozooide de la especie *Trididemnum cereum* (Giard, 1872) inmediatamente después de la metamorfosis, demostrando que se originan en los O.T.L. y migran luego hacia el resto de la túnica. El estudio con microscopía electrónica de transmisión de los O.T.L. reveló en ellos la presencia de células escleroblásticas con grandes vacuolas en cuyo interior se forman las espículas.

Estos experimentos, al probar el origen intracelular y en el interior de los O.T.L. de las espículas, refuerzan el interés sistemático del estudio de las mismas. LAFARGUE & LAUBIER (1980) realizan una breve descripción de las espículas de las especies de las costas francesas, sirviéndose de la microscopía electrónica de "scanning".

En el presente trabajo se estudia con detalle la morfología ultraestructural de las espículas de las especies halladas en el litoral catalán y balear, cuantificando estadísticamente el número de radios que presentan. El interés de poseer un catálogo preciso con las especies de esta costa radica en la gran dificultad que ofrece la clasificación de las muestras de esta familia. La observación de los caracteres habitualmente utilizados en las claves requiere una cuidadosa recolección, anestesia y fijación de los ejemplares. La no realización de este proceso provoca enormes dificultades en

la determinación de las muestras, lo cual queda paliado en buena parte al poder emplear en la clasificación un carácter estable como son las espículas (salvo que se utilicen fijadores ácidos).

Al mismo tiempo, se analiza el grado de variabilidad intraespecífica existente; así como, por comparación con los estudios realizados por LAFARGUE & LAUBIER (1980) en la costa francesa, se evalúa la constancia de la morfología espicular al ir extendiendo el área geográfica de estudio, pues probablemente los factores ecológicos y biogeográficos actúan sobre la forma de las espículas (MONNIOT, 1970).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las colonias de las diferentes especies fueron recolectadas mediante inmersión con escafandra autónoma en diversos puntos del litoral catalán y balear.

Las espículas fueron aisladas disolviendo fragmentos de colonias en lejía comercial caliente. Posteriormente, por decantación, fueron lavadas con agua y deshidratadas en una serie alcohólica ascendente. Para el montaje, una gota de suspensión era depositada sobre el portaobjetos, dejando evaporar el alcohol. El sombreado se realizó con oro mediante la técnica de "sputtering".

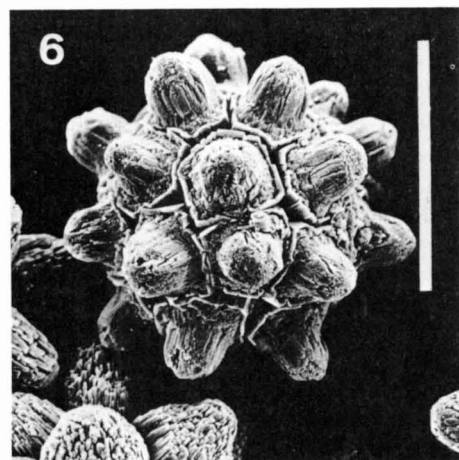
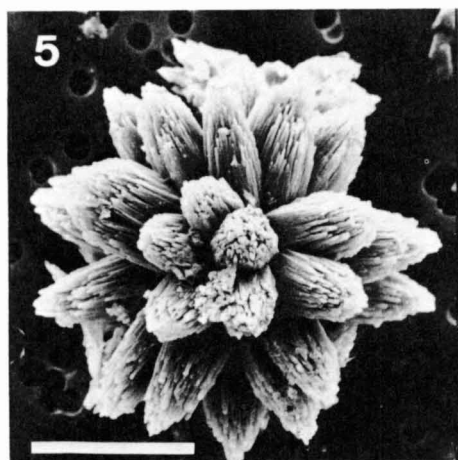
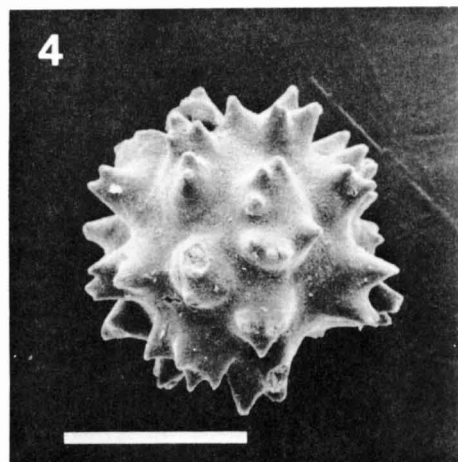
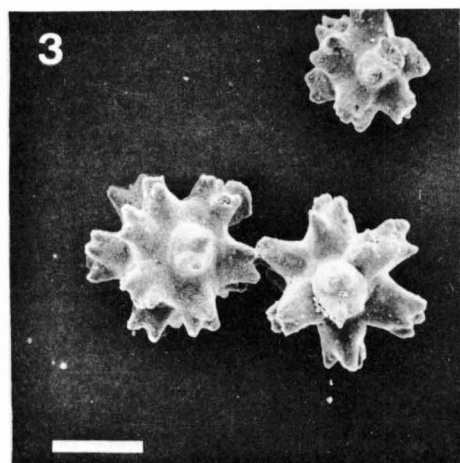
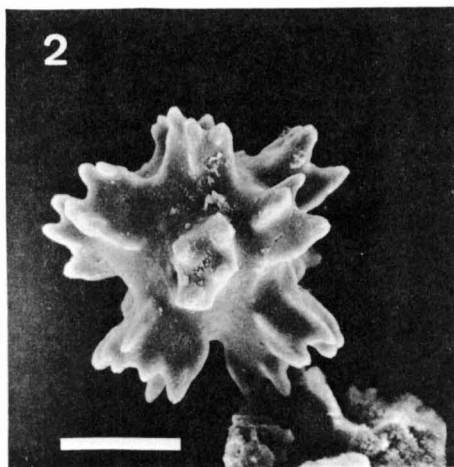
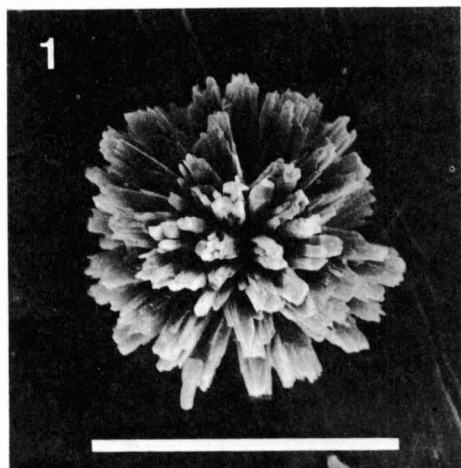
La observación se llevó a cabo con un microscopio electrónico de "scanning" Cambridge S4 y un Jeol JSM 840 pertenecientes al Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona.

De cada especie se contaron el número de radios presentes en el sector visible de un número de espículas procedentes de colonias recolectadas en diversos hábitats y puntos geográficos.

En la exposición de los resultados obteni-

Figs. 1-6. Formas espiculares: 1. *Lissoclinum weigelei* Lafargue, 1968; 2. *Lissoclinum perforatum* (Giard, 1872); 3. *Polysyncraton haranti* Lafargue, 1975; 4. *Polysyncraton canetense* Brément, 1913; 5. *Polysyncraton lacazei* (Giard, 1872); 6. *Polysyncraton bilobatum* Lafargue, 1968. (Escala: 20 μm .)

Spicular types (Scale; 20 μm .)



dos se sigue la línea evolutiva propuesta por LAFARGUE (1983) para los géneros de esta familia.

RESULTADOS

Los datos estadísticos correspondientes a los radios contados se muestran en la tabla 1. Se puede observar que existe una gran constancia para este carácter en cada especie. La desviación típica aumenta en aquellas que poseen mayor número de radios, pero se mantiene siempre con valores inferiores a tres. En adelante las referencias al “número de radios en el sector visible de las espículas” se darán simplemente como “número de radios”.

Lissoclinum weigelei Lafargue, 1968 (fig. 1). La forma de las espículas en esta especie es distintiva. Los radios son aciculares y muy numerosos, dando a las espículas un aspecto esférico al observarlas con el microscopio óptico. Por su número y delgadez es imposible el recuento exacto de los radios.

Lissoclinum perforatum (Giard, 1872) (fig. 2).

Las espículas de esta especie son muy características. Los radios están ensanchados y alabeados en sus extremos, con contornos redondeados, lo que hace que no presenten un aspecto cristalino. Es la especie que posee menor número de radios, normalmente seis o siete, aunque en ocasiones son difíciles de discernir por su irregular apariencia.

Polysyncraton haranti Lafargue, 1975 (fig. 3). La morfología espicular recuerda enormemente a la especie anterior, aunque las formas se van haciendo más regulares. Los radios, alabeados en sus extremos, están más individualizados y menos bifurcados. Igual-

Tabla 1. Datos estadísticos del número de radios. (*) número de radios incontable.

Results of counts of rays. (*) countless number of rays.

Especie	n	\bar{x}	s	s/ \sqrt{n}
<i>Lissoclinum weigelei</i> (*)	—	—	—	—
<i>Lissoclinum perforatum</i>	300	6,76	1,19	0,068
<i>Polysyncraton haranti</i>	300	9,64	1,52	0,088
<i>Polysyncraton canetense</i>	300	17,42	2,40	0,139
<i>Polysyncraton lacazei</i>	400	22,09	2,65	0,133
<i>Polysyncraton bilobatum</i>	400	16,32	2,03	0,101
<i>Didemnum lahillei</i> (*)	—	—	—	—
<i>Didemnum maculosum</i>	400	18,54	2,40	0,120
<i>Didemnum coriaceum</i>	500	14,22	1,52	0,068
<i>Didemnum granulatum</i>	400	21,64	2,57	0,129
<i>Didemnum coccineum</i>	400	16,97	2,20	0,110
<i>Didemnum commune</i>	400	15,37	2,07	0,103
<i>Didemnum drachi</i>	400	11,15	1,71	0,086
<i>Didemnum pseudofulgens</i>	300	14,91	2,08	0,120
<i>Didemnum fulgens</i>	300	11,89	1,61	0,092
<i>Trididemnum cereum</i>	400	18,95	2,14	0,107
<i>Trididemnum inarmatum</i>	200	15,65	1,77	0,125

mente hay un incremento en el número de los mismos, que normalmente es del orden de nueve a 11.

Polysyncraton canetense Brément, 1913 (fig. 4).

Continuando la tendencia marcada por las dos especies precedentes, las espículas presentan en este caso un aspecto más regular. Los extremos de los radios se dividen en dos o tres puntas agudas. El número de radios presentes ha aumentado notablemente (unos 16 a 19 radios por término medio).

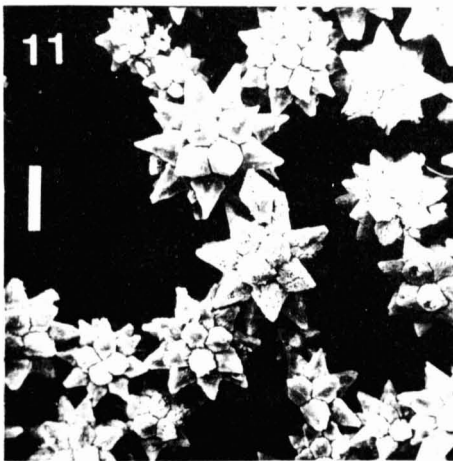
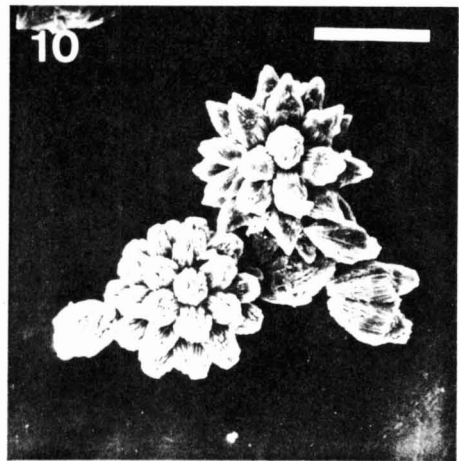
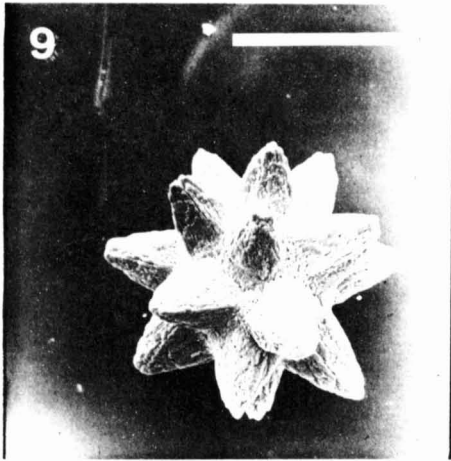
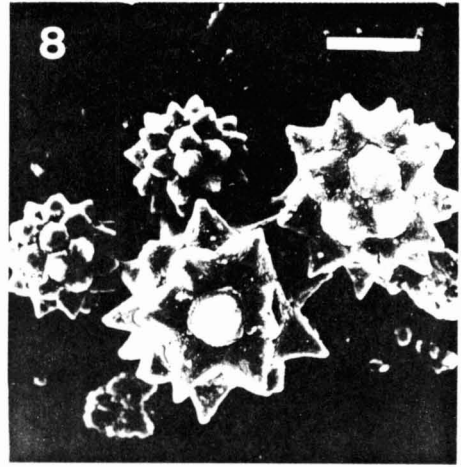
Polysyncraton lacazei (Giard, 1872) (fig. 5).

En esta especie las espículas presentan un aspecto netamente estrellado. Los radios están bien individualizados, aunque presentan una estructura acicular que les da un aspecto fibroso. Sus extremos son puntiagudos.

El número de radios es de los más eleva-

Figs. 7-12. Formas espiculares: 7. *Didemnum lahillei* Hartmeyer, 1909; 8. *Didemnum maculosum* (Milne-Edwards, 1841); 9. *Didemnum coriaceum* (Von Drasche, 1883); 10. *Didemnum granulatum* (Von Drasche, 1883); 11. *Didemnum coccineum* (Von Drasche, 1883); 12. *Didemnum commune* (Della Valle, 1877). (Escala: 20 μ m).

Spicular types (Scale: 20 μ m).



dos de las especies aquí estudiadas, situándose la media alrededor de 22, aunque existe una cierta dispersión respecto a este carácter.

Polysyncraton bilobatum Lafargue, 1968.

Distingue a esta especie la posesión de un tipo espicular que, en mayor o menor proporción respecto a otras formas, se halla siempre presente. La figura 6 muestra una de estas espículas, reconocibles por sus radios cortos y redondeados, con aspecto acampanado. Los campos entre los radios suelen agrietarse formando figuras hexagonales. Aparte de esta especie, solamente en ciertas colonias de *Didemnum maculosum* se han encontrado algunas espículas con aspecto similar al descrito.

El número de radios de esta especie oscila generalmente entre 15 y 18.

Didemnum lahillei Hartmeyer, 1909 (fig. 7).

Las espículas, de apariencia similar a las de *Lissoclinum weigelei*, presentan una estructura acicular muy marcada, hasta el punto de que los radios son en muchos casos indiscernibles y es imposible su recuento. Existe una gradación desde formas esféricas totalmente fibrilares hasta formas en que se pueden distinguir agrupaciones de acículas en radios, siempre en número superior a 30.

Didemnum maculosum (Milne-Edwards, 1841) (fig. 8).

Dentro de una cierta variedad de formas, el tipo espicular más característico que se puede encontrar en todas las colonias de esta especie, se distingue por la presencia de radios cortos, puntiagudos y numerosos, lo que le confiere un aspecto muy regular. Son frecuentes fracturas hexagonales en la base de los radios. El número de los mismos varía según el ejemplar, aunque es muy constante para cada colonia. Es siempre superior a 16 y la máxima frecuencia corresponde a valores entre 18 y 19.

Didemnum coriaceum (Von Drasche, 1983) (fig. 9).

Especie que posee también espículas muy regulares. Se diferencia de la anterior por tener radios más largos y en menor número (generalmente menos de 15, con la media alrededor de 14) y con las puntas más romas.

Los radios son en ocasiones compactos, pero más frecuentemente su superficie está agrietada y tienen cierto aspecto fibrilar.

Didemnum granulolum (Von Drasche, 1883) (fig. 10).

Sus espículas son fácilmente reconocibles por el elevado número de radios (superior a 20, con la media entre 21 y 22). Existen dos tipos espiculares que coexisten en las colonias: una forma con radios más compactos y puntas agudas y otra, más abundante, con los radios de estructura fibrosa y las puntas romas.

Didemnum coccineum (Von Drasche, 1883).

El aspecto de las espículas es similar a las de *Didemnum maculosum*. Su carácter distintivo es su gran regularidad y la presencia en algunas espículas de radios muy compactos y con aristas, que sólo se han hallado en esta especie (fig. 11, parte superior).

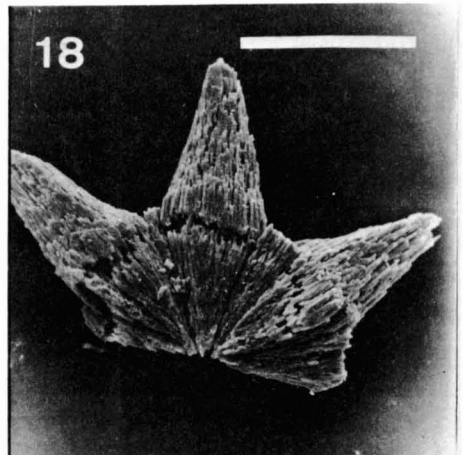
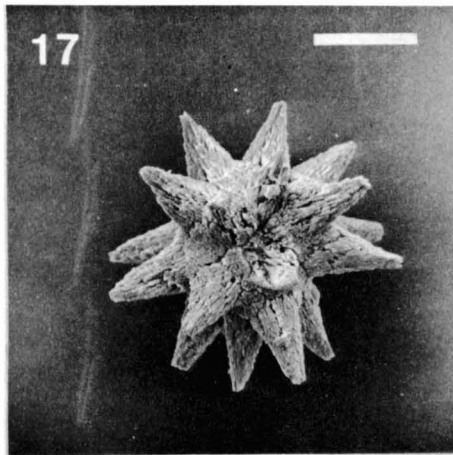
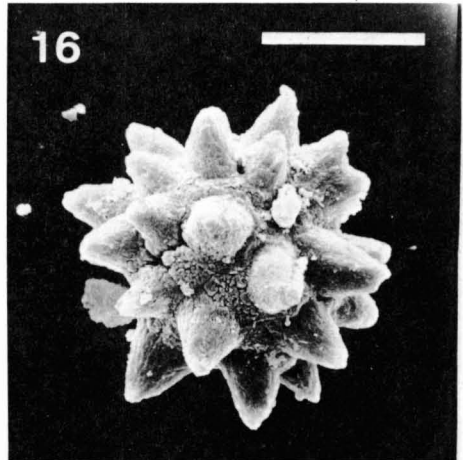
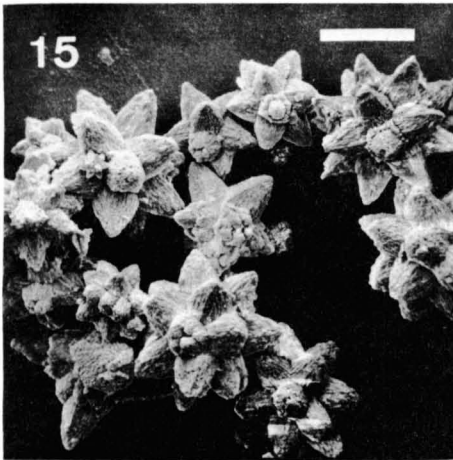
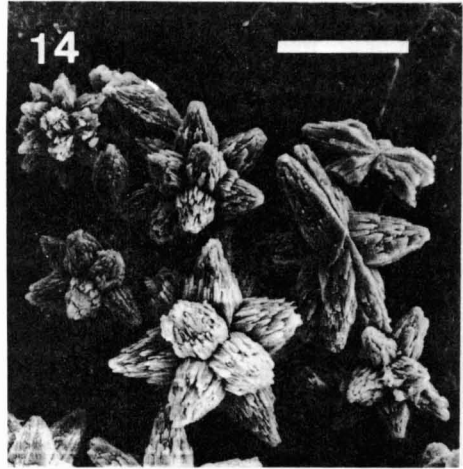
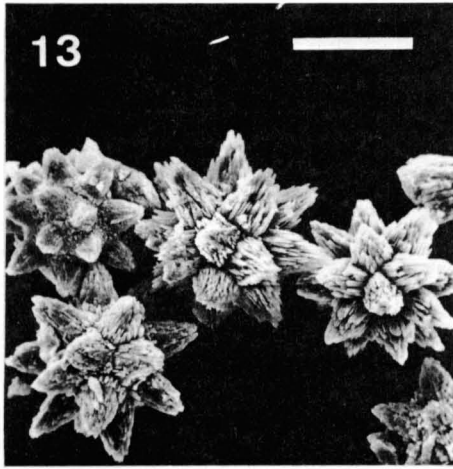
El número de radios oscila entre 15 y 18, con la media aproximadamente en 17.

Didemnum commune (Della Valle, 1877) (fig. 12).

Esta especie presenta un tipo espicular característico, que se encuentra en distinta proporción según las colonias, pero que está siempre presente. Se trata de espículas con los radios truncados, de forma tronco-cónica. Existe una gradación entre formas cuyos radios tienen puntas agudas, radios truncados cerca de su extremo y radios truncados cada vez más cerca de la base. El recuento sitúa alrededor de 15 la media de radios presentes en las espículas.

Figs. 13-18. Formas espiculares: 13. *Didemnum drachi* Lafargue, 1975; 14. *Didemnum pseudofulgens* Medioni, 1970; 15. *Didemnum fulgens* (Milne-Edwards, 1841); 16. *Trididemnum cereum* (Giard, 1872); 17. *Trididemnum inarmatum* (Von Drasche, 1883); 18. *Trididemnum inarmatum*, fragmento. (Escala: 20 μm .)

Spicular Types (Scale, 20 μm .)



Didemnum drachi Lafargue, 1975 (fig. 13). Esta especie presenta un número de radios reducido (entre 11 y 12 por término medio); la mayoría de ellos con estructura fibrilar, aunque hay un segundo tipo espicular de radios más compactos que coexiste con el primero. En general hay pocos elementos distintivos respecto a otras especies.

Didemnum pseudofulgens Médioni, 1970 (Fig. 14).

Especie difícil de reconocer por su morfología espicular; existen siempre algunas espículas irregulares y aplanadas aunque en proporción a veces muy baja. El resto presenta un tipo bastante diversificado, recordando tanto a las espículas de *Didemnum commune* como de *Didemnum coriaceum*. El número de radios oscila alrededor de 15.

Didemnum fulgens (Milne-Edwards, 1841)

Las espículas son similares a las de *Didemnum coriaceum* por sus radios bien formados y poco puntiagudos. Se pueden diferenciar por su menor número de radios (la media está próxima a 12) y por la frecuencia con que aparecen fracturas e irregularidades en la base de algunos de ellos, como se aprecia en algunas espículas de la figura 15.

Trididemnum cereum (Giard, 1872) (fig. 16).

Las espículas de esta especie presentan tres características: un número elevado de radios (entre 18 y 22 por término medio), una alta proporción de formas irregulares, ya sea espículas excéntricas, ya sea con anomalías en su estructura, y la presencia de un espacio libre entre los radios que presenta un aspecto granular.

Trididemnum inarmatum (Von Drasche, 1883) (fig. 17).

En esta especie se incrementa la proporción de formas excéntricas e irregulares; en muchos casos las espículas pierden la estructura estrellada característica y poseen un aspecto amorfo. En las espículas bien formadas se aprecian también espacios granulares entre los radios, aunque menos extensos que en la especie anterior.

Se diferencia también de *Trididemnum cereum* por su número menor de radios (entre 15 y 17) y por ser éstos más largos que en la especie precedente. En la figura 18 se muestra un fragmento de una espícula disgregada en que se puede apreciar la estructura de los radios.

DISCUSIÓN

La constancia y la regularidad observada en la forma de las espículas de las especies estudiadas confirma la utilidad de este carácter en la sistemática de la familia Didemnidae. Sin embargo, existen algunas especies cuya separación por este criterio es problemática, principalmente en el género *Didemnum*, cuya evolución radiativa (LAFARGUE, 1983) ha originado muchas formas similares entre sí. No obstante, si se examina un número suficiente de espículas y se hacen recuentos de radios se puede llegar a determinar a qué especie pertenecen. *Lissoclinum weigelei*, *Lissoclinum perforatum*, *Polysyncraton haranti*, *Polysyncraton canetense*, *Polysyncraton bilobatum*, *Didemnum lahillei*, *Didemnum granulosum* y *Didemnum commune* se pueden calificar de especies "fáciles" de clasificar rápidamente sólo observando la morfología espicular. En el otro extremo, *Didemnum coccineum*, *Didemnum drachi*, *Didemnum pseudofulgens* y *Didemnum fulgens* son las que presentan espículas menos características, aunque su observación puede, en el peor de los casos, aportar un dato muy valioso a los otros caracteres morfológicos convencionales para facilitar su clasificación. En general, son más fácilmente diferenciables por la forma de las espículas las especies de los géneros *Lissoclinum* y *Polysyncraton*, presentando más dificultad las de *Didemnum* y *Trididemnum*.

Al comparar los resultados con el estudio de LAFARGUE & LAUBIER (1980) en el litoral francés, se puede apreciar que el grado de coincidencia es muy elevado en las distintas especies; aunque hay que hacer notar el tipo espicular descrito en *Polysyncraton bilobatum* que no parece haber sido hallado por estos autores. Por otro lado, estudiando colo-

nias de esta especie procedentes del Atlántico (Islas Canarias), se ha encontrado esta misma morfología. Todos estos datos parecen indicar que la forma de las espículas se mantiene constante aun en áreas geográficas bastante amplias, aunque este punto precisaría de estudios complementarios en otras zonas para su exacta delimitación.

Las espículas podrían permitir también un seguimiento de la evolución de la familia en diversos puntos. Así, parece clara una secuencia entre *Lissoclinum perforatum*, *Polysyncraton haranti* y *Polysyncraton canetense*. Igualmente entre *Trididemnum cereum* y *Trididemnum inarmatum*, donde hay una línea de aumento de la irregularidad de las espículas. LAFARGUE (1983) propone una línea evolutiva según la cual la secuencia genérica sería *Lissoclinum* → *Polysyncraton* → *Didemnum* → *Trididemnum*. Esta secuencia podría tener también un reflejo en la morfología espicular: en los dos primeros géneros abundan las formas redondeadas en las espículas, que adquieren un aspecto más cristalino y regular en el género *Didemnum*, complicándose luego en *Trididemnum*, en que abundan formas anómalas y aberrantes.

Por último cabe señalar que, aunque la mayoría de caracteres de la morfología espicular son observables con el microscopio óptico, otros escapan a su poder de resolución. Es interesante, por tanto, que los trabajos de sistemática de esta familia aporten imágenes ultraestructurales de las espículas, procedimiento seguido hasta la fecha por muy pocos autores (KOTT, 1980, 1981; KOTT & GOODBODY, 1980; MONNIOT, 1983).

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento al personal del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona, que nos ha ayudado constantemente en la resolución de los problemas técnicos que este estudio ha planteado.

BIBLIOGRAFÍA

- ELDRIDGE, L. G., 1966. A taxonomic review of Indo Pacific Didemnid Ascidiaceans and descriptions of twenty three Central Pacific species. *Micronesia*, 2(2): 161-261.
- GIARD, A. M., 1872. Recherches sur les ascidies composées ou synascidies. *Arch. Zool. exp. gén. (sér. 1)*, 1: 501-704.
- HERDMAN, W. A. 1886. *Report on the Tunicata collected during the voyage of H. M. S. Challenger during the years 1873-1876, part 2, Ascidiaceae compositae*. Zool. Chall. Exp. Part XXXVIII.
- KNIPRATH, E. & LAFARGUE, F., 1980. Spicule Formation in the Didemnidae (Compound Ascidiaceans). In: *The Mechanisms of Biomineralization in Animals and Plants. Proceedings of the Third International Biomineralization Symposium (1977)*: 31-36 (M. Omori and N. Watabe, Eds.). Tokyo University Press. Tokyo.
- KOTT, P., 1980. Algal bearing Didemnid Ascidiaceans in the Indo-West-Pacific. *Mem. Qd. Mus.*, 20(1): 1-47.
- 1981. The Ascidiaceans of the Reef Flats of Fidji. *Proc. Linn. Soc. N.S.W.*, 105(3): 147-212.
- KOTT, P. & GOODBODY, I., 1980. The Ascidiaceans of Hong Kong. In: *Proceedings of the First International Marine Biological Workshop: The Marine Flora and Fauna of Hong Kong and Southern China*: 503-554 (B.S. Morton and C.K. Tseng, Eds.). Hong Kong University Press. Hong Kong.
- LAFARGUE, F., 1968. Les peuplements sessiles de l'Archipel de Glénan. II. Les Didemnidae. *Systématique. Ecologie. Vie Milieu*, 19(2A): 353-446.
- 1977. Révision taxonomique des Didemnidae des côtes de France (Ascidiaceae composées). Synthèse des résultats principaux. *Ann. Inst. océanogr., Paris*, 53(1): 135-153.
- 1983. Evolution des Ascidiaceae Didemnidae. I. Cas des espèces françaises. *Vie Milieu*, 33(1): 1-15.
- LAFARGUE, F. & KNIPRATH, E., 1978. Formation des spicules de Didemnidae (Ascidiaceae composées). I. L'apparition des spicules chez l'oozoïde après la métamorphose. *Marine Biology*, 45: 175-184.
- LAFARGUE, F. & LAUBIER, L., 1980. Lignée évolutive chez les Didemnidae des côtes de France. Valeur systématique des spicules. *Ann. Inst. océanogr., Paris*, 56(1): 21-44.
- MONNIOT, F., 1970. Les spicules chez les Tuniciers Aplousobranches. *Arch. Zool. exp. gén.*, 111: 303-311.
- 1983. Ascidiaceae littorales de Guadeloupe. I. Didemnidae. *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 4^e sér. 5. section A, n° 1: 5-49.
- PÈRES, J. M., 1947. Note sur le Genre *Trididemnum* dans la région de Dinard, accompagnée de remarques sur les organes latéraux des Didemnidae. *Bull. Inst. océanogr., Monaco*, 914: 1-16.
- PRENANT, M., 1923. Formation extracellulaire des

- spicules calcaires chez les Didemnidae. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 48: 119-122.
- 1925. Contributions à l'étude cytologique du calcaire. II. Sur les conditions de formation des spicules chez les Didemnidés. *Bull. Biol. France Belgique*, 59: 403-435.
- VAN NAME, W., 1945. The North and South American Ascidiens. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 84: 1-476.
- WOODLAND, W., 1907. Studies in spicule formation. VI. The scleroblastic development of the spicules in some Mollusca and in one Genus of Colonial Ascidiens. *Quart. J. Microsc. Sci.*, 51: 45-53.