

Tesis de Posgrado

Biología de la reproducción de Anasterias Minuta Perrier (Echinodermata, Asteroidea) : Especie incubadora de las costas patagónicas

Salvat, Mariana Beatriz

1985

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Salvat, Mariana Beatriz. (1985). Biología de la reproducción de Anasterias Minuta Perrier (Echinodermata, Asteroidea) : Especie incubadora de las costas patagónicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1900_Salvat.pdf

Cita tipo Chicago:

Salvat, Mariana Beatriz. "Biología de la reproducción de Anasterias Minuta Perrier (Echinodermata, Asteroidea) : Especie incubadora de las costas patagónicas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1985.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1900_Salvat.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Tesis 1900

ej. 2

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION DE ANASTERIAS MINUTA
PERRIER (ECHINODERMATA, ASTEROIDEA), ESPECIE
INCUBADORA DE LAS COSTAS PATAGONICAS

MARIANA B. SALVAT

5-1985-1900

TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLOGICAS

DIRECTOR: DR. HARALDO E. CHRISTIANSEN

CO-DIRECTORA: DRA. CARMEN J. DE LA SERNA DE ESTEBAN

REG. 1900

1985

A mis padres

A mi esposo

A mis hijos

A G R A D E C I M I E N T O S

- Al Dr. Haraldo E. Christiansen, cuya intervención fue decisiva en este trabajo, por la confianza que desde un principio depositó en mi persona y por todas las enseñanzas que me dejó el extraordinario ser humano que hay en él.
- A la Prof. Consulta Dra. Carmen de la Serna de Esteban, por sus consejos, su guía y la protección casi maternal que siempre brinda a los que la rodean.
- Al Prof. Emérito Dr. Jorge M. De Carlo, por su permanente disposición para orientar a sus discípulos.
- Al Dr. Oscar Kühnemann, director del CIBIMA (Centro de Investigación de Biología Marina), por su amabilidad en facilitarme el material que sirvió de base para este estudio.
- A la Lic. Gladys Pellerano, por la lectura crítica del texto definitivo, así como por los oportunos consejos que supo brindarme.

- A mi compañera de laboratorio, Lic. Ercilia Galliussi, de quien mucho aprendí a lo largo de todos estos años, por su ayuda y su calidez de siempre.
- Al Dr. Axel Bachmann , por la lectura crítica de gran parte de este trabajo.
- Al Sr. Santos Pereyra, dibujante del INIDEP (Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero), por su gentileza en realizar el entintado de la mayoría de los gráficos.
- A la Lic. Laura Varangot de Espínola, por el interés que demostró en mi trabajo, y por la colaboración prestada.
- A la Srta. Delfy Mansilla, por su valiosa guía en el laboratorio fotográfico.
- A las Lics. Luisa Fiorito de López y Lilia Lauría de Cidre, con quienes compartí muchos años de trabajo.

- A la Lic. Beatriz González, por su generosa ayuda en el manejo estadístico de los datos.
- A la Sra. Carmen de Rossi, por su colaboración en algunas tareas técnicas.
- A mi compañera y amiga la Lic. Beatriz Ebekian, quien a lo largo de todos estos años me infundió ánimos para lograr este objetivo.
- A mis padres, que me alentaron durante toda mi carrera universitaria, por su incondicional ayuda en todos los momentos de mi vida.
- Finalmente a mi esposo, sin cuyo permanente aliento y constante apoyo no hubiera podido concretar este esfuerzo.

I N D I C E

1. INTRODUCCION

- 1.1. Antecedentes en los estudios de equinodermos . . . 1
- 1.2. Ubicación sistemática y clave de las especies argentinas del género Anasterias; distribución geográfica de A. minuta 3
- 1.3. Hábitos de incubación de la cría 7

2. MATERIAL Y METODOS

- 2.1. Area de muestreo: ubicación geográfica y características topográficas. 13
- 2.2. Obtención del material 18
- 2.3. Determinación del índice gonadal 19
- 2.4. Estudios histológicos 23
- 2.5. Estudios estereométricos. 26

3. RESULTADOS

- 3.1. Morfología de las gonadas 33
- 3.2. Histología de las gonadas 37
 - 3.2.1. Porción somática: pared gonadal 37
 - 3.2.2. Espermatogénesis: escala de madurez sexual en los machos 42
 - 3.2.3. Oogénesis: escala de madurez sexual en las hembras 55
 - 3.2.4. Tejidos fagocitarios 74
 - a. Tejido fagocitario en los machos 74
 - b. Tejido fagocitario en las hembras ("tejido vesiculoso") 75
 - 3.2.5. Células "gigantes" 77
- 3.3. Fecundidad 80
- 3.4. Ciclo reproductivo 91
 - 3.4.1. Índice gonadal 91
 - 3.4.2. Sucesión de los estadios de maduración . . . 97
 - a. Machos 97
 - b. Hembras 105

3.5. Individuos hermafroditas	110
3.6. Parásitos	114
 4. DISCUSION Y CONCLUSIONES	
4.1. Estudios histológicos	120
4.2. Fecundidad	129
4.3. Ciclo reproductivo; época de puesta	130
4.4. Hermafroditismo	135
4.5. Parásitos	137
4.6. Conclusiones finales	138
 5. BIBLIOGRAFIA	144
 6. APENDICE	
6.1. Algunos detalles de la gametogénesis en fo- tografías en color.	164
6.1.1. Espermatogénesis	164
6.1.2. Oogénesis	166
6.2. Morfología del espermatozoide.	170
6.3. Métodos estadísticos	173
6.3.1. Determinación del índice gonadal	173
6.3.2. Fecundidad	174
a. Relación entre fecundidad y volumen gonadal.	174
b. Recuento de embriones en la cámara incuba- triz	175
6.3.3. Índice gonadal: variaciones a lo largo del año.	175

Abreviaturas utilizadas en microfotografía

a	espermátidas
A	plaqueta vitelina acidófila
B	" " basófila
c	citoplasma lisado
D	conectivo denso
E	epitelio germinativo
e	espermátogonias
e _I	espermátocitos I
e _{II}	" II
F	flagelos
f	tejido fagocitario
g	células "gigantes"
L	lumen
mv	membrana vitelina
N	núcleo
n	nucleolo
of	oocito en fagocitosis
oj	" joven
o _I	I
o _{II}	II
o _{III}	" III
ov	" V
P	peritoneo visceral

p pared gonadal

pe pared externa del seno celómico genital

pi " interna " " " "

SCG seno celómico genital

SH " hemal

z espermatozoides

1 membrana basal del peritoneo visceral

2 " " " epitelio externo del
seno celómico genital

3 " " " epitelio interno del
seno celómico genital

4 " " epitelio germinativo

FE DE ERRATAS

PAG.	REGLON N°	DONDE SE LEE	DEBE LEERSE
59	3	estre	entre
65	13	dimensione	dimensiones
70	22	IV y V	ni IV
86	2	F	F _v
86	12	8	7
121	16	nueve	nueva
38	15	vaculas	vacuolas
65	11	invariable	invariables
176	2	Sheffé	Scheffé

Además, en la tabla de pág. 177, en lugar de:

2) Feb y Ene vs. Mar, Nov y Dic; Estadístico = 4,07(S)

debe leerse:

2) Feb y Mar vs. Nov, Dic y Ene; Estadístico = 25,36(S)

1.1. ANTECEDENTES EN LOS ESTUDIOS DE EQUINODERMOS.

El grupo de los equinodermos habita los océanos desde largo tiempo atrás. En efecto, el origen del Phylum se remonta a comienzos del Paleozoico, es decir hace 600 millones de años.

Los equinodermos se cuentan entre los habitantes más abundantes de los fondos marinos; en las profundidades abisales llegan a constituir hasta el 90% de la biomasa (Fell y Pawson, 1966).

Si bien la mayoría de las especies se reproducen mediante larvas de vida libre, otras en cambio poseen desarrollo directo con incubación de la cría. Sin embargo, de éstas últimas sólo unas pocas especies han sido estudiadas con intensidad.

Si nos referimos a los equinodermos de América del Sur, y en particular a las especies de aguas argentinas, es notoria la falta de información sobre cualquier aspecto de su biología.

Un párrafo aparte merece la Sistemática, ya que gracias a la valiosísima tarea de la Prof. Bernasconi, hay en el país numerosos trabajos sobre estos grupos. Así, extensas monografías con descripciones de especies nuevas y redescrición

de otras conocidas, claves y demás publicaciones, conforman una obra de valor inestimable, resultado de toda una vida de trabajo. A esta autora fundamentalmente, se debe entonces el elevado estado actual del conocimiento sistemático de la fauna de equinodermos argentinos.

Sin embargo, excepto escasos trabajos aislados (Salvat, 1975 a y b), es hasta ahora prácticamente nulo lo que se conoce de la biología de las especies existentes en el país. Así, existe un vacío casi total de información sobre aspectos tan importantes como la alimentación, fisiología de la respiración, ecología, comportamiento y parásitos.

El presente trabajo intenta contribuir al conocimiento preliminar de algunos tópicos de la reproducción de la estrella de mar Anasterias minuta Perrier. Aparentemente, esta especie ocuparía un importante rol en el ecosistema bentónico y demersal, como voraz predadora de mitílidos y otros invertebrados, muchos de ellos de alto valor económico.

Parafraseando a Smith (1971): "Conociendo los mecanismos fisiológicos "normales", es posible evaluar los cambios ocurridos debido a la

contaminación (Leighton et al., 1967; Smith, 1968), alteraciones en las tramas alimentarias marinas (Paine, 1966), floraciones epidémicas de especies indeseables (Hancock, 1955) u otras alteraciones ecológicas"

1.2. UBICACION SISTEMATICA Y CLAVE DE LAS ESPECIES
ARGENTINAS DEL GENERO ANASTERIAS; DISTRIBUCION
GEOGRAFICA DE ANASTERIAS MINUTA.

Anasterias minuta (foto N°1) es estrella de mar de tamaño mediano: generalmente mide de 3 a 4 cm de radio, presentando algunos ejemplares hasta 5 cm.

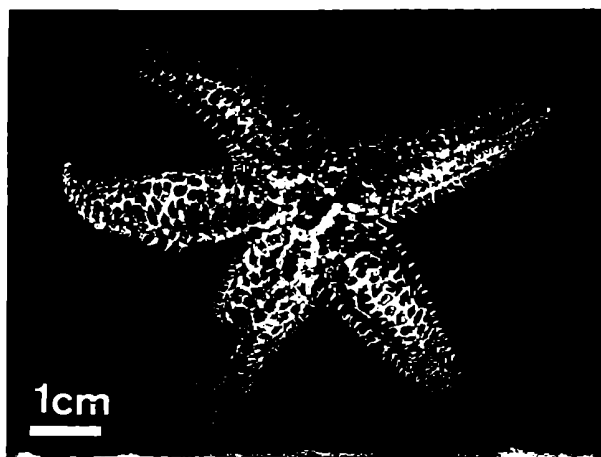


Foto N° 1. Anasterias minuta,
vista aboral.

Tomando en cuenta la clasificación de Nichols (1967), la ubicación sistemática de esta especie es la siguiente:

Phylum: ECHINODERMATA

Clase: ASTEROIDEA

Subclase: EUASTEROIDEA

Orden: FORCIPULATA

Familia: ASTERIIDAE

Subfamilia: ASTERIINAE

La subfamilia Asteriinae está abundantemente representada en la Argentina. En efecto, existe una docena de géneros, con más de 30 especies en total (Bernasconi, 1964 a).

El género Anasterias incluye 6 especies, la mayoría de las cuales presentan gran semejanza entre sí. Es por ello que la determinación sistemática de ejemplares de dicho género ha sido siempre problemática.

La siguiente clave es el resultado de la observación personal de numerosos ejemplares de todas las especies, como parte de un trabajo inédito. Con la intención, entonces, de que ella sirva de ayuda a los estudiosos de este grupo, propongo la siguiente:

Clave para la determinación sistemática
de las especies argentinas del género Anasterias:

1. Esqueleto abactinal débil: placas dispuestas laxamente, sobre todo en el disco aboral A. conferta
- 1'. Esqueleto abactinal más o menos robusto: placas siempre unidas formando un retículo más o menos cerrado 2
2. Con dos, tres o cuatro púas inferomarginales A. stolidota
- 2'. Con dos púas inferomarginales, aunque puede haber placas aisladas con tres púas. .3
3. Superficie abactinal con escasos pedicelarios cruzados, y generalmente pocas púas. A. minuta
- 3'. Superficie abactinal con numerosos pedicelarios cruzados4
4. Aspecto bastante delicado; tegumento delgado; pedicelarios cruzados abactinales principalmente en los brazos, rodeando a las púas. Púas abactinales no muy numerosas, largas y delgadas. Placas súperomarginales con no más de una púa cada una A. pedicellaris

- 4'. Aspecto más robusto; tegumento grueso; pedicelarios cruzados abactinales dispersos por toda la superficie, y en general muy numerosos. Púas abactinales también muy numerosas, cortas y romas. Placas súperomarginales: pueden tener hasta tres púas cada una 5
5. Pedicelarios rectos abactinales grandes, con valvas casi triangulares. Generalmente de aguas profundas A.studeri
- 5'. Pedicelarios rectos con valvas alargadas y tamaño normal o grande; generalmente de aguas superficiales A. antarctica

La descripción de los caracteres específicos de A. minuta no es el objeto de este trabajo. Remito para ello al lector a las siguientes referencias: Perrier (1875), Fisher (1940) y Bernasconi (1966); a ellas se agrega el reciente trabajo (aún inédito) de Hernández y Tablado.

Esta especie es un típico representante de las aguas templado-frías del litoral patagónico. Se la encuentra en aguas subantárticas de la extremidad austral de Sudamérica (0-100 m de profundidad, según Hernández y Tablado, inédito).

Su área de distribución corresponde específicamente a la provincia Magallánica de la región Subantártica, es decir desde 42°S hasta Tierra del Fuego, incluyendo Islas Malvinas (Bernasconi, 1964 b).

Ocupa típicamente ambientes rocosos del meso e infralitoral, donde forma densas poblaciones.

1.3. HABITOS DE INCUBACION DE LA CRIA

Como es sabido, en los asteroideos- al igual que en las otras Clases del Phylum - el desarrollo indirecto es la condición más general. Sin embargo, existen numerosas especies que han desarrollado diversos mecanismos de incubación de la cría, y en estos casos el desarrollo es directo. Se suprimen, entonces, las etapas de larvas libres y tras un período a veces bastante largo, los individuos hijos se desprenden del cuerpo de la madre ya totalmente formados como estrellas juveniles e inician su existencia independiente.

En general, este fenómeno se halla asociado a la producción de un número relativamente reducido de huevos, de gran tamaño y ricos en vitelo. Dichas características son- obviamente - adaptaciones para asegurar la nutrición de los embriones

hasta su completo desarrollo.

En los tres Ordenes de Asteroidea existen ejemplos de especies con uno u otro tipo de hábito incubador: en total, son más de 100 las citadas (Boolootian, 1966; Fisher, 1930 y 1940; Hyman, 1955 y Verrill, 1914, según Smith, 1971).

Los mecanismos que ellas han desarrollado para llevar a cabo tal función, son variados. Así, por ejemplo, entre los Phanerozonia, las crías se desarrollan entre las paxilas de la superficie aboral del cuerpo. Este es, entre otros, el caso de Ctenodiscus australis (Lieberkind, 1926, según Hyman, 1955), especie que también habita el Mar Argentino.

En algunos miembros de la familia Pterasteridae (Orden Spinulosa) existe una verdadera "cámara nidamental" en la superficie aboral del cuerpo. Al mismo Orden pertenece Patiriella vivípara, donde existen en el interior del cuerpo sacos especiales derivados de las gonadas, en los que se desarrolla la cría. Cuando los juveniles adquieren un cierto tamaño, se rompen los sacos incubadores y ellos pasan al celoma; de allí emergen al exterior a través de las placas abac-

tinales del adulto (Dartnall, 1969).

Por último, entre los miembros del Orden Forcipulata que presentan hábitos incubadores, se encuentra Odinella nutrix. En esta especie antártica, la cría se desarrolla en los ángulos entre los numerosos brazos, donde las espinas se interdigitan para formar una especie de cesto (Hyman, 1955).

Pero, sin embargo, quizás el más común entre los mecanismos de incubación en Asteroideos, sea el que presenta la especie que nos ocupa. En efecto, en Anasterias minuta, al igual que en otros miembros del Orden Forcipulata y algunos de Spinulosa (Hyman, 1955), la hembra arquea los brazos de modo de formar una cámara delimitada por la superficie oral de aquéllos y el sustrato sobre el que se adhiere (fotos N°2 y 3).

El mismo comportamiento se ha observado en otras especies de la Familia Asteriidae, también habitantes de aguas antárticas y subantárticas de América del Sur y alrededores. A saber, según Hyman (1955): Anasterias antarctica (Phillipi, 1870 y Perrier, 1891); Lysasterias perrieri (Smith, 1876 y 1879); Anasterias studeri,



Foto N°2. A. minuta, vista lateral de una hembra en posición incubadora.

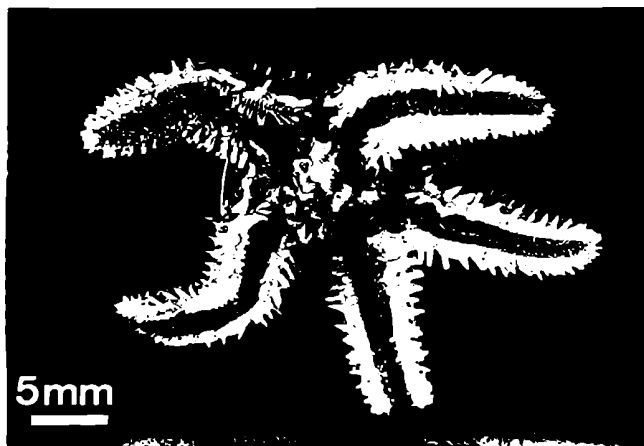


Foto N°3. A. minuta, vista oral de una hembra incubando. Obsérvese la cría en avanzado estado de desarrollo (pequeñas estrellitas).

Diplasterias brandti (=lütkeni), y Neosmilaster steineni (Perrier, 1891); Lysasterias belgicae y chirophora (Ludwig, 1903); Cryptasterias turqueti (Koehler, 1906) y Diplasterias octoradiata, D. brucei y D. meridionalis (Fisher, 1940). Recientemente, Hernández y Tablado (inédito) citan el mismo hábito en Anasterias pedicellaris.

En las aguas frías del Hemisferio Norte, por otra parte, existen diversas especies del género Leptasterias (pertenecientes a la misma familia) que también incuban en la región oral:

L. hexactis (Chia, 1964 y 1966), L. pusilla (Smith, 1971), L. tenera (Worley et al., 1977), L. littoralis (O'Brien, 1977) y por último L. arctica (Fisher, 1930) y L. mülleri (Sars, 1844 y 1846), éstas dos últimas según Hyman, 1955.

Entre los miembros del Orden Spinulosa que presentan este tipo de incubación, podemos nombrar a Henricia sanguinolenta (Sars, 1844 y 1846, según Hyman, 1955).

En los asteroideos en general, los gonoporos se ubican en posición lateral o dorsal (aboral). Sin embargo, como resultado de la adaptación a la función, en todas estas especies que

poseen incubación oral, aquéllos han migrado hasta ubicarse en la cara ventral (oral) del cuerpo.

Finalmente, en Leptasterias groenlandica existe una variante a este tipo de incubación. En esta especie los huevos son fecundados en la cámara oral, pero luego pasan al estómago cardíaco para allí desarrollarse (Lieberkind, 1921).

Por último, he de aclarar que también en L.tenera existe una etapa del desarrollo que transcurre en el estómago (aunque en este caso se trata del estómago pilórico). Los embriones son retenidos allí durante un tiempo relativamente breve, y luego son liberados a la cámara incubatriz donde continúan su desarrollo hasta el final (Worley et al., op. cit.).

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. AREA DE MUESTREO: UBICACION GEOGRAFICA Y CARACTERISTICAS TOPOGRAFICAS.

El material fue colectado en la costa austral argentina: Ría de Puerto Deseado (Lat.: 47°45' S; Long.: 65°55'0), Provincia de Santa Cruz (fig. 1).

La Ría del Río Deseado se presenta como una caleta de 40 km de longitud, orientada en su primera porción de E a O y luego de NE a SO. La boca de la Ría está limitada por Roca Foca al norte y Restinga Chaffers al sur (fig. 2).

Debido a que las amplitudes de mareas son muy grandes (hasta 6 m en sicigia, más las variaciones debido a factores meteorológicos), y a que el declive es en general bastante suave, queda expuesto en bajamar un amplio piso mesolitoral, de enorme riqueza faunística y florística.

La temperatura del agua es bastante uniforme en profundidad y a lo largo de la Ría. Según un promedio de 5 años (Kühnemann, 1969), la variación anual de temperatura del agua es de 9°C. Así, el valor máximo se alcanza en marzo, con 13,5°C y el mínimo en agosto, con 4,5°C. Es

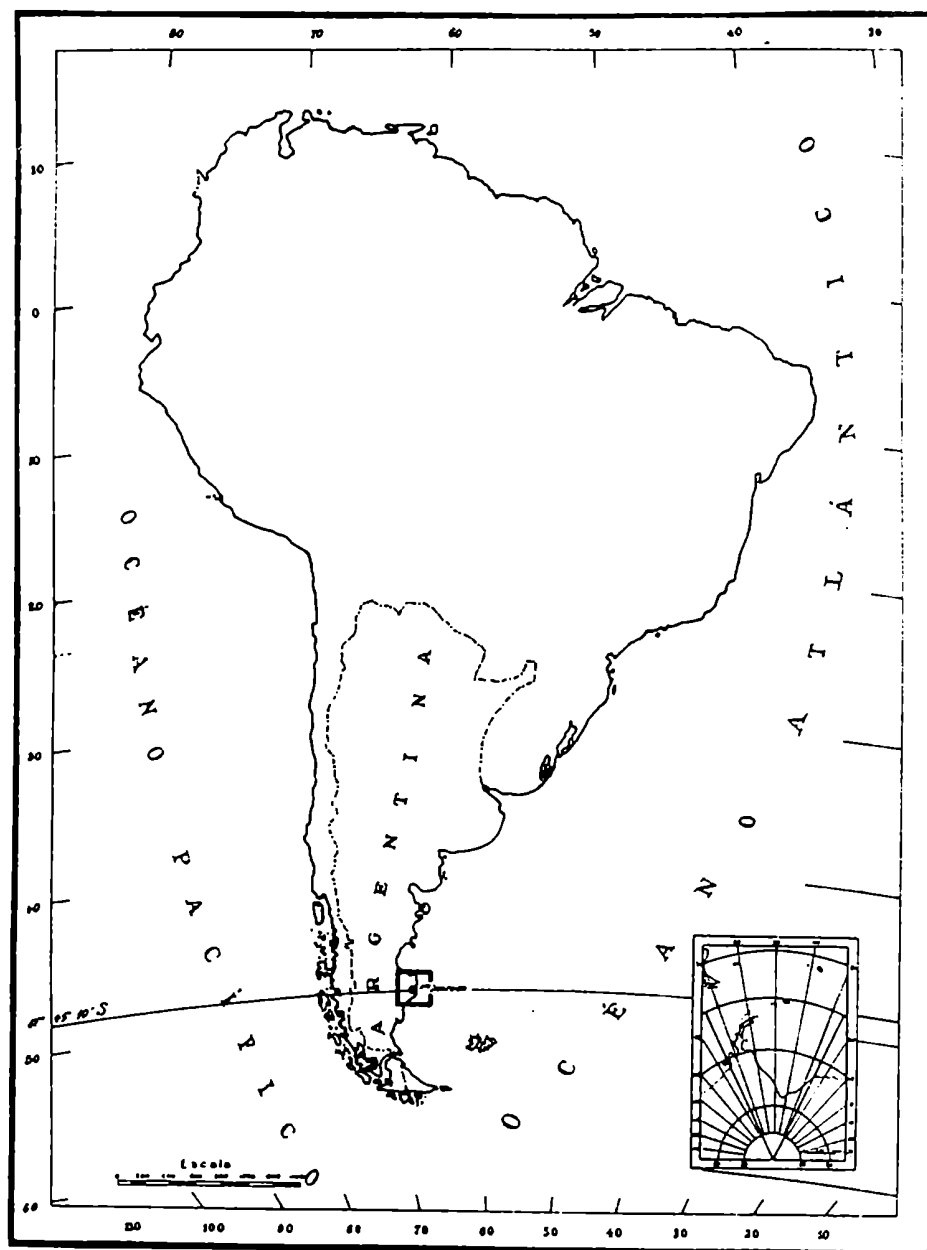


Figura 1: Ubicación geográfica de la localidad de Puerto Deseado, donde fue colectada la totalidad del material.

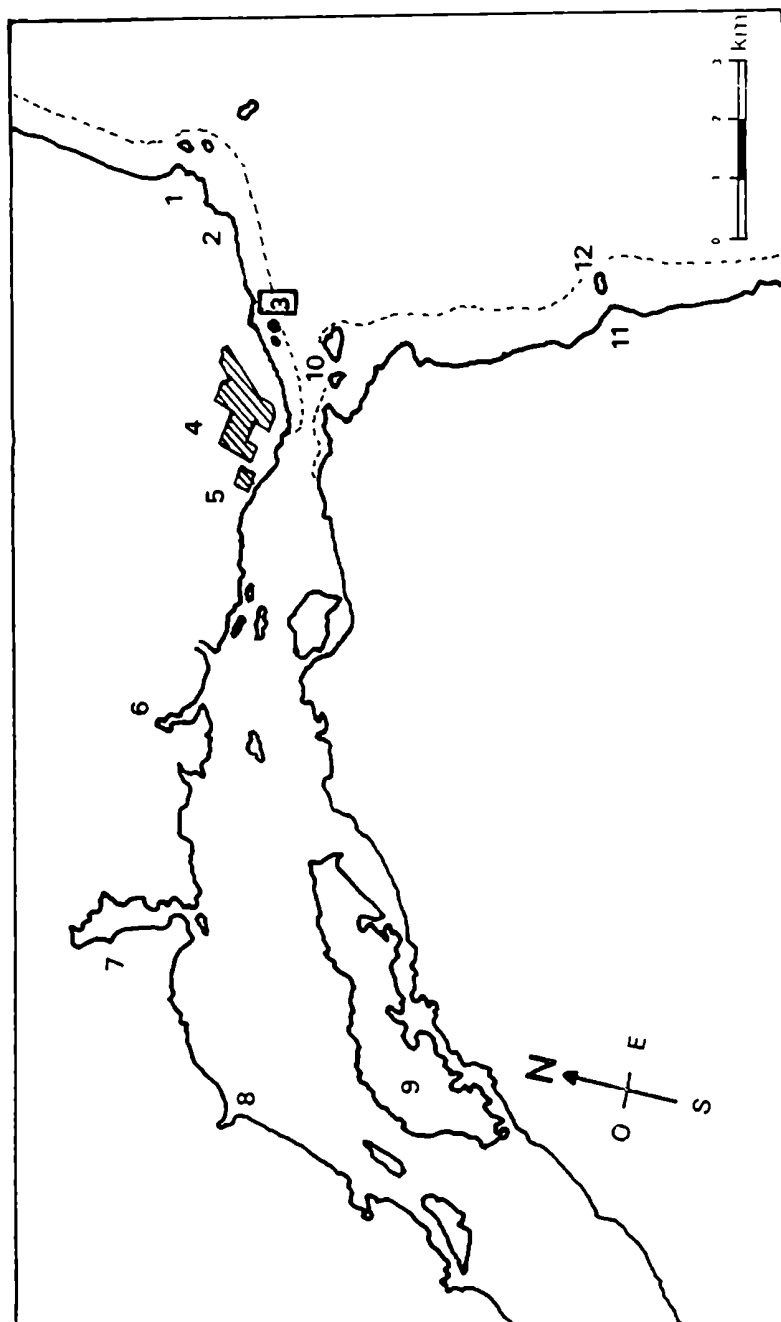


Figura 2: Ría Deseado; principales accidentes costeros y otras referencias. 1: Península Foca; 2: Punta Cavendish; 3: Isla Dos Hermanas (área de muestreo en este trabajo); 4: ciudad de Puerto Deseado; 5: laboratorios de Biología Marina; 6: Cañadón Torcido; 7: Cañadón del puerto; 8: Bahía Uruguay, Calleta Zar; 9: península Viedma; 10: Restinga Chaffers; 11: Punta Guanacos; 12: Isla de las Gaviotas.

evidente que por su temperatura, estas aguas son típicamente subantárticas.

La salinidad, por otro lado, no presenta grandes variaciones locales ni estacionales ($S=33^{\circ}/\text{oo}$).

Según Kühnemann (op.cit.), la uniformidad tanto en la salinidad como en la temperatura serían atribuibles a la gran renovación y movimiento del agua por las corrientes de marea, y a que el aporte de agua continental del Río De-seado es escaso en invierno y nulo en verano.

En cuanto al área específica de muestreo, ésta corresponde a la costa ubicada frente a Isla Dos Hermanas (Fig. 2). El sustrato es allí una plataforma rocosa cubierta de algas.

En el piso mesolitoral durante la bajamar se observan, entre las abundantes grietas del terreno, numerosas pozas de marea de dimensiones variables, llenas de organismos animales y vegetales (foto n°4). Estas piletas son de distintos tipos (Kühnemann, op.cit.). Así por ejemplo, en las piletas rojas donde es frecuente Anasterias minuta, abundan también las actinias, anfípodos y peces nototénidos. Entre los

componentes florísticos, dominan las Rodofíceas: Corallina officinalis y Ceramium sp. Aparecen también algas verdes (Ulva, Cladophora y Enteromorpha) y entre las pardas: Dictyota cervicornis.

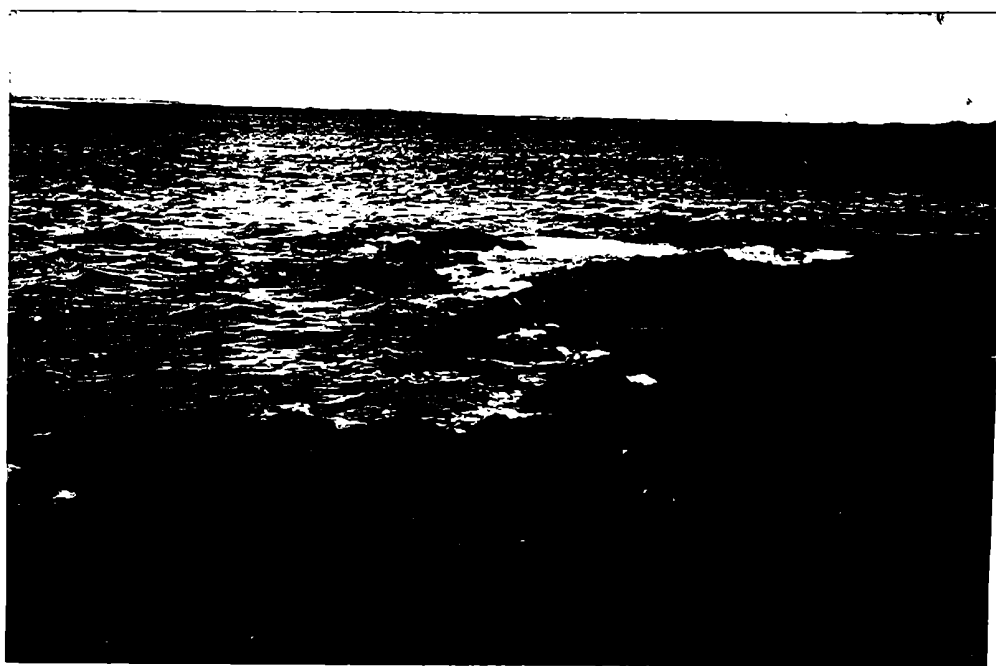


Foto N° 4. Area de muestreo ("Dos Hermanas", Puerto Deseado): aspecto del piso Mesolitoral durante la bajamar.

2.2. OBTENCION DEL MATERIAL

A. minuta es la especie más común de asteroideos de Puerto Deseado. Al recorrer en bajamar el piso mesolitoral en la zona de Dos Hermanas, es bastante frecuente encontrar ejemplares de esta especie. Ellos aparecen al levantar las rocas más planas, adheridos a la superficie inferior de éstas (foto N° 5), o bien en el interior



Foto N° 5. Superficie inferior de una roca en la zona de muestreo, levantada para mostrar las estrellas de mar adheridas a ella (flechas).

de las piletas de marea.

De esta manera se procedió para co-
lectar la totalidad del material utilizado. Los e-
jemplares de radio (longitud del brazo) menor que
1,5 cm fueron descartados, para así excluir posi-
bles individuos juveniles inmaduros.

El material fue fijado en formol 10%
y remitido a Buenos Aires para su posterior proce-
samiento en los laboratorios de Histología Animal
de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (U-
niversidad de Buenos Aires).

2.3. DETERMINACION DEL INDICE GONADAL

En primer lugar, se intentó determi-
nar si existía una correlación entre la longitud
del brazo y el peso húmedo del cuerpo en A. minuta.
Se midieron ambos parámetros en un grupo de 29 e-
jemplares y los resultados se observan en la Fig.3.
Evidentemente, existe una buena correlación entre
longitud y peso. Por lo tanto, cualquiera de los
dos parámetros serviría como referencia del esta-
do de desarrollo de un determinado individuo. Pa-
ra los cálculos del índice gonadal entonces, se
decidió utilizar - por razones de conveniencia -

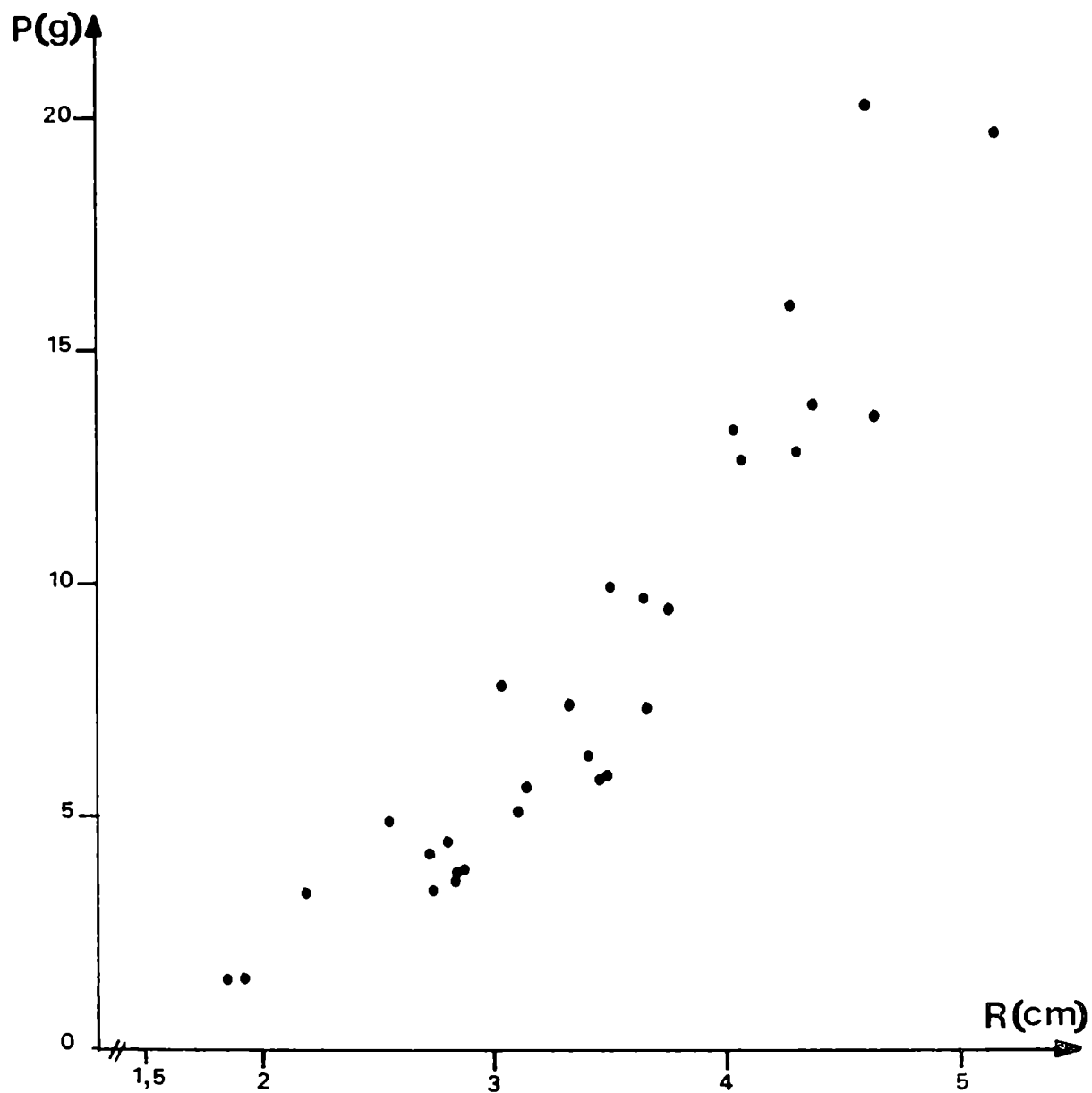


Figura 3: Correlación entre la longitud del brazo (R) y el peso del cuerpo (P) en Anasterias minuta.

el peso del cuerpo (ver Apéndice 6.3.1.).

Con respecto al índice gonadal en sí, diversas han sido las fórmulas utilizadas por los distintos autores para su estimación, tanto en asteroideos como en otros equinodermos. Así, por ejemplo, se ha relacionado la longitud de la gonada con la longitud del brazo (Skjaeveland, 1973), el volumen de la gonada con el volumen del cuerpo (Fuji, 1960, según Smith, 1971; McPherson, 1968), el peso de la gonada con el peso húmedo total del cuerpo (Kowalski, 1955; Feder, 1956; Tanaka, 1958, según Boolootian, 1966; Smith, 1971; Jangoux y Vloebergh, 1973).

Otra fórmula de amplia utilización es la que relaciona el volumen de la gonada con el peso húmedo del cuerpo (Giese et al., 1957, según Smith, 1971; Farmanfarmanian et al., 1958; Lasker y Giese, 1954, según Farmanfarmanian et al., 1958; Turner y Boolootian - inédito - según Boolootian, 1966; Bennett y Giese, 1955, según Farmanfarmanian et al., 1958).

En el estudio de A. minuta se optó por este último método; así, la fórmula aplicada fue:

$$\text{I.G. (Índice gonadal)} = \frac{\text{Volumen gonadal total}}{\text{Peso húmedo total del cuerpo}} \times 100$$

Los pasos seguidos durante el procesamiento, fueron los siguientes: se pesó cada ejemplar con una aproximación de 0,1 g, previa eliminación del excedente de líquido dejando el material unos minutos sobre papel absorbente. Los animales fueron luego disecados y el volumen gonadal total de cada individuo fue medido con una aproximación de 0,05 cm³, según el método de desplazamiento de agua en un recipiente graduado.

En cuanto al material utilizado para estos cálculos, éste provenía de muestreos realizados en dos diferentes años. De esta manera, se intentó comparar la evolución de dicho índice en ambos períodos.

Así, se tomó en cuenta - en primer lugar- el muestreo principal, desde febrero de 1979 hasta enero de 1980. Fueron analizados 14 ejemplares por mes, entre los cuales debía haber por los menos 6 de cada sexo.

Por otro lado, se hizo lo propio con individuos colectados también mensualmente, desde mayo hasta noviembre de 1973. En este caso

se consideraron entre 10 y 28 ejemplares por mes.

2.4. ESTUDIOS HISTOLOGICOS

Continuando con el procesamiento del material, una vez determinados los volúmenes gonadales, se conservaron las gonadas en alcohol 70% para su posterior estudio histológico.

Se analizaron entonces en primer lugar los individuos provenientes del muestreo principal: 1979/1980. Se estudiaron entre 4 y 13 ejemplares de cada sexo por mes. Ello hizo un total de 156 individuos. Los resultados fueron utilizados para la elaboración de los gráficos.

No obstante, se utilizaron además para pruebas complementarias, especímenes procedentes de muestreos anteriores y posteriores (1973, 1978, 1980 y 1981). En total, entonces, a lo largo de todo este trabajo fue estudiada la histología de las gonadas de 240 individuos.

Dado que generalmente todas las gonadas de un mismo individuo están en el mismo estadio de desarrollo, se examinó casi siempre un solo órgano por ejemplar. En los pocos casos en que existían visibles diferencias de tamaño entre

distintas gonadas de un mismo animal, se efectuaron los correspondientes cortes histológicos y siempre se comprobó que el estadio era el mismo. Así por ejemplo en el caso de los ovarios, las diferencias de tamaño se debían únicamente a la distinta cantidad de oocitos presentes, y no a su grado de madurez.

Los órganos fueron incluidos en parafina y seccionados en un micrótomos Leitz, obteniéndose cortes de 8 μ m de espesor.

Para cortar ovarios maduros, fue necesario realizar un tratamiento previo, dado que la presencia de vitelo hace que el material se torne sumamente friable luego de la fijación. Se rebajaron entonces los bloques de parafina hasta dejar expuesto el órgano; en estas condiciones se los dejó sumergidos en agua unas horas, hasta que la pieza comenzaba a sobresalir de la superficie del bloque. En ese momento era posible cortar sin inconvenientes.

En el estudio de la composición química del vitelo, para poder realizar ciertas comprobaciones fue necesario efectuar cortes con un micrótomos de congelación Jung.

La coloración que se usó para diag-

nóstico fue Hematoxilina - Eosina (hematoxilina de Carazzi y eosina alcohólica). Para los estudios de la pared gonadal resultó muy eficaz la variante de la coloración tricrómica de Masson, que sustituye la hematoxilina de Regaud por la de Carazzi. El empleo de esta última posibilita una mayor rapidez en el desarrollo de la técnica. Asimismo, el tricrómico de Leray y Stahl se usó para visualizar con perfecta nitidez las membranas basales y en general el sistema de senos. Antes de realizar ambas coloraciones tricrómicas, fue preciso refijar el material en Bicromato de Potasio 3-5%.

Se investigó la presencia de fibras elásticas con la técnica de orceína nítrica de Rubens Duval. Para las pruebas histoquímicas del vitelo se practicaron las siguientes técnicas: P.A.S., Azul de Alcian a pH 3,5 (fórmula de Mowry), Negro Sudán y Sudán III.

Para observar los espermatozoides en detalle, se utilizó la técnica del "squash"; los preparados resultantes fueron coloreados con hematoxilina de Heidenhein o Rosa de Bengala.

Todas las mediciones de células o de sus constituyentes fueron efectuadas con la ayuda de un ocular micrométrico, incorporado en un microscopio Reichert y/o Wild.

Por último, las fotomicrografías fueron tomadas con un fotomicroscopio Carl Zeiss con exposímetro automático.

2.5. ESTUDIOS ESTEREOMETRICOS

A fin de estimar la fecundidad de A. minuta, se efectuaron estudios de estereometría según el método desarrollado por Christiansen, H.E. (Christiansen, Cabrera y Brodsky, 1972; Christiansen y Weiss, 1974 y Christiansen, 1977, entre otros).

Para ello fueron utilizados 36 ejemplares hembras, con ovarios maduros o en maduración avanzada. De todos ellos, 17 provenían de un muestreo nuevo realizado a tal efecto en enero de 1984 y el resto, eran parte del muestreo principal 1979-1980. En este último caso, las gonadas habían sido conservadas en alcohol 70%, por lo que aproximadamente 10 días antes de procederse a su procesamiento para los estudios estereométricos, fueron colocadas en formol 10%.

En primer lugar, fue necesario calcular el volumen gonadal total en aquellos ejemplares en que este valor era aún desconocido (principalmente en el material nuevo), siempre según el

método de desplazamiento (ver ítem 2.3.). A continuación, se realizaron los desgastes en el microtomo de congelación, hasta obtener las láminas de material que permitirían - a posteriori - realizar el recuento ovocitario que impone la técnica.

El procedimiento completo a seguir para los estudios esterométricos consta de distintas etapas, a saber:

- a) Desgaste (Se utilizó un microtomo Leitz/Wetzlar para congelación, modelo 1310):
 - i. Se apoya sobre la platina del microtomo (previamente enfriado) una pequeña lámina de vidrio conteniendo la mayor cantidad posible de ovarios de un determinado individuo, agrupados entre sí.
 - ii. Se gotea agua sobre la muestra para que al enfriarse progresivamente el material, quede conformada una masa sólida.
 - iii. Una vez logrado el máximo enfriamiento, se comienza a desgastar la pieza con el máximo espesor de corte (o bien regulando éste en forma manual).
 - iv. Cuando se obtiene una superficie bien lisa, se suspende el desgaste y se descongela levemente para lograr el desprendimiento del material des

de su base.

- v. Inmediatamente, se aplica sobre la superficie cortada otra pequeña lámina de vidrio previamente pincelada con solución de gelatina entibiada a 40°C (composición de la solución: 200 mg de gelatina, 200 mg de goma arábiga y 1 cm³ de agua), que posibilita una perfecta adherencia del tejido al vidrio.
- vi. Se invierte el conjunto de placa de vidrio y material, y se vuelve a colocar sobre la platina del micrótopo. Se enfría nuevamente para continuar desgastando la pieza - ahora a partir del otro extremo - hasta obtener una única lámina final (que queda adherida al vidrio) de 40 a 60 µm de espesor.
- vii. Se retira entonces del micrótopo la placa de vidrio con la lámina histológica, y sobre ella se coloca un cubreobjetos. El material ya se encuentra en condiciones de ser observado directamente - sin necesidad de coloración alguna - en el microscopio.

b) Conservación:

En los casos en que el material no ha de ser observado inmediatamente, puede ser con-

servado durante varios días en una cámara húmeda formolada.

c) Recuento ovocitario (Se utilizó un microscopio Leitz/Wetzlar provisto de un ocular a revólver de plaquitas reticuladas de integración Carl Zeiss; se empleó la plaquita integradora I de 25 puntos combinada con el objetivo 4X):

Se recorre el preparado en forma ordenada, realizando recuentos en los distintos campos microscópicos que van quedando delimitados (en este caso, de 3 a 11 por individuo). Los recuentos se llevan a cabo de la siguiente manera.

En un determinado campo microscópico, al superponerse la plaquita (Fig. 4) sobre la imagen, un cierto número de ovocitos quedará enmarcado en el cuadrado del retículo. Para el recuento se considerará únicamente a los que estén maduros o en maduración avanzada. Se cuenta entonces el total de ellos, más aquéllos que - pese a no encontrarse enteramente contenidos en el marco - tuvieren su centro de gravedad dentro de aquél o bien sobre sus márgenes superior o izquierdo (esto último por convención). Se obtiene así para cada campo un valor determinado; los va-

lores de todos los campos de un individuo, se promedian y el resultado se llamará N_A .

A su vez, en cada campo es preciso contar también el número de puntos del retículo que hacen impacto sobre las células tipificadas (oocitos maduros o en maduración avanzada), tengan éstas o no su centro de gravedad dentro del marco. Luego se promedian todos los valores de un individuo y el resultado se divide por el total de puntos del retículo (en este caso 25), obteniéndose así la proporción que se llamará V_V .

d) Cálculos numéricos:

Existe un principio estereométrico que expresa: "en una serie de cortes delgados la relación de la superficie de los componentes es la misma que la relación de los volúmenes de esos componentes en la totalidad del cuerpo" (Schaefer, 1970, según Christiansen, Brodsky y Cabrera, 1973b). Es decir que la distribución de los elementos en superficie nos da una idea clara de la porcentualidad de ellos en un volumen dado.

Aplicando entonces la ecuación de Weibel y Gómez (1962), se calcula la densidad numérica N_V de la siguiente manera:

$$N_V = \frac{K \sqrt{N_A^3}}{\beta \sqrt{V_V}}$$

En ella, el coeficiente K es un valor relacionado con la distribución de tallas; dado que éste rara vez excede en las muestras biológicas el valor 1,1 (Weibel, 1969, según Christiansen, Brodsky y Cabrera, 1973a), ha sido reemplazado - en los datos aquí procesados - por 1.

A su vez, β es un valor que depende de la forma de los cuerpos en cuestión. Se calcula entonces la razón λ de los ejes a y b que generalmente existen en todos los oocitos, y luego a partir de la curva de coeficientes para elipsoides (Fig. 5) se obtiene directamente el valor de β .

Se obtendrá finalmente un valor de densidad numérica para cada individuo, que a su vez corresponderá al denominado "volumen unitario". Este volumen depende del retículo utilizado y se calcula basándose en las dimensiones del campo microscópico. Por lo tanto, y dado que se conocía de antemano el volumen gonadal total de cada individuo, resulta sencillo estimar finalmente la den

sidad numérica real, es decir la fecundidad de cada individuo.

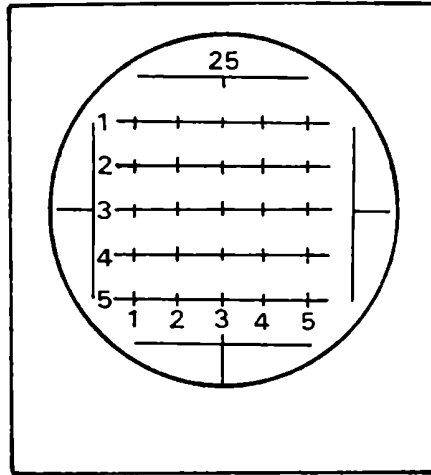


Figura 4. Plaquita integradora I Zeiss/Oberkochen (retículo de 25 puntos), utilizada para el recuento ovocitario.

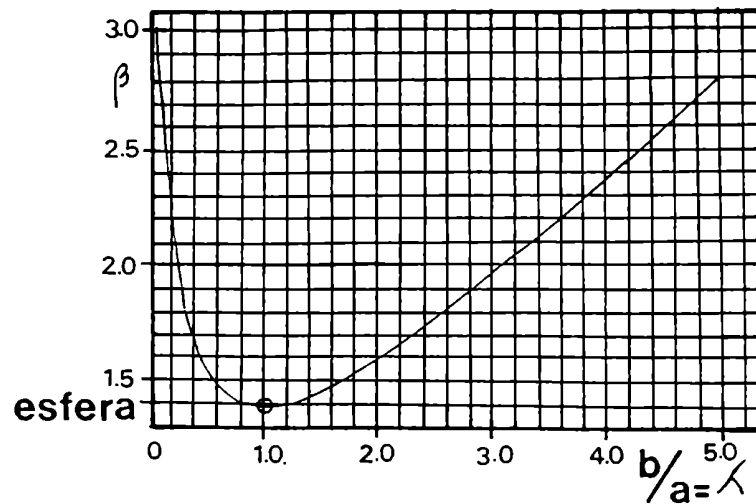


Figura 5. Coeficientes de forma para elipsoides, como función de la razón axial ($b/a = \lambda$) (Weibel, 1969).

3. RESULTADOS

3.1. MORFOLOGIA DE LAS GONADAS

Existen típicamente 5 pares de gonadas por individuo, ubicadas en la base de los brazos, a ambos lados del ángulo interr radial. Un corto gonoducto sale de cada órgano y desemboca en la superficie oral, a través de una papila genital.

Una vez disecado el animal, es muy fácil determinar el sexo en Anasterias minuta, ya que ovarios y testículos difieren netamente por su forma, y en el período de madurez también por el color. Así, los testículos son siempre blanquecinos, de aspecto plumoso, con numerosas proyecciones digitiformes ("túbulos" o "folículos"). En la madurez, éstos se cargan de esperma y el testículo alcanza gran tamaño (foto N° 6). En cambio, luego de la evacuación, el órgano se retrae completamente (foto N° 7).

Los ovarios son sacos más o menos esféricos, a su vez divididos en unidades menores ("alveolos") de contornos circulares. Si bien cuando inmaduros son pequeños y de color blanco (foto N° 8), en la madurez aumentan mucho de tamaño y se tornan bien globosos y de color amarillo



Foto N° 6. Testículo maduro (Estadio 6)

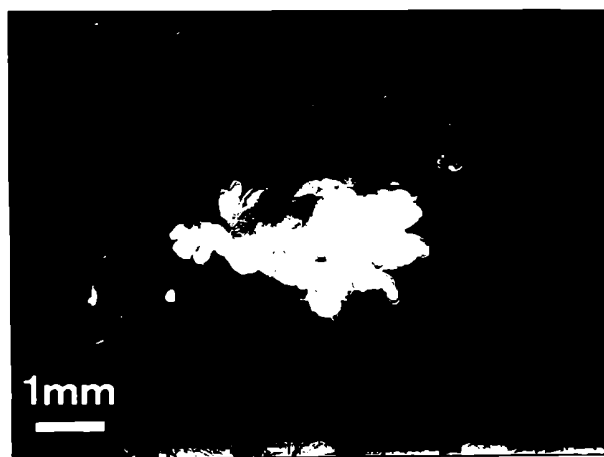


Foto N° 7. Testículo post-evacuado (Estadio 7)

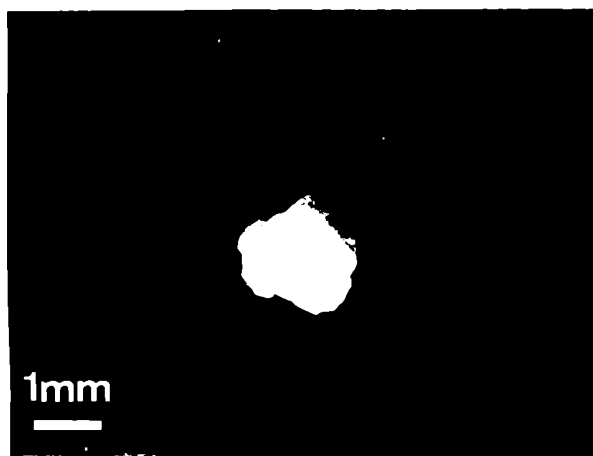


Foto N° 8. Ovario en reposo (Estadio 0)

fuerte o naranja debido al acúmulo de vitelo en los oocitos (foto N°9).

En los machos nunca se observó falta de algún testículo, pero en las hembras ocasionalmente faltaba un ovario (en una oportunidad faltaban dos , de diferentes brazos). El caso extremo fue el de una hembra que poseía sólo un par de gonadas, las cuales eran perfectamente funcionales.



Foto N° 9. Ovario prematuro (Estadio 4).
Obsérvense por transparencia, los oocitos IV, de enorme tamaño, que hacen saliencia en la pared del ovario.

3.2. HISTOLOGIA DE LAS GONADAS

3.2.1. Porción somática: Pared gonadal

Se estudiaron los tejidos somáticos de las gonadas de Anasterias minuta, a nivel de microscopía óptica. Se vió que existen 2 sacos -uno externo y otro interno- que, separados entre sí por el seno celómico genital (de ahora en adelante SCG), envuelven a los tejidos germinales en toda la extensión de la gonada. De afuera hacia adentro, cada una de dichas partes con sus respectivos componentes, presentan las siguientes características (foto N° 10).

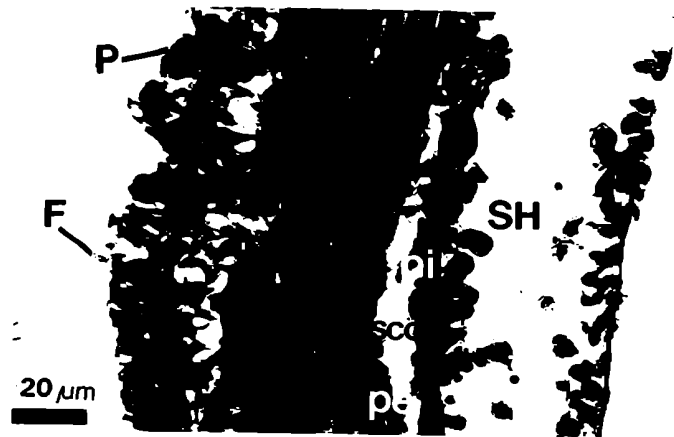


Foto. N° 10. Pared gonadal, detalle (epitelio germinativo desgarrado).

i. Saco externo

-Peritoneo visceral: éste es en realidad un mesotelio formado por una capa de células, que toma distintos aspectos de acuerdo al grado de distensión de la gonada. Así por ejemplo en el momento de máxima madurez veremos un epitelio cúbico bajo a pavimentoso, mientras que inmediatamente después de la evacuación éste aparecerá cilíndrico y hasta pseudoestratificado. En cuanto al tipo de células que lo forman, encontramos dos: las más abundantes son epiteliales flageladas y entre ellas las más raras, que llamaremos por sus afinidades tintoriales "células acidófilas" ("vacuole filled cells" de Walker). En efecto, poseen el citoplasma lleno de numerosas pequeñas vacuolas, que muchas veces llegan a ocultar el núcleo. Ocasionalmente en coloraciones bien contrastadas puede verse por debajo del peritoneo una delgada capa de fibras musculares. Es posible que ellas correspondan a lo que Walker (1979) mediante microscopía electrónica observó que eran porciones contráctiles de las propias células epiteliales. De modo que podría tratarse de un tipo de células mioepiteliales.

-Conectivo denso: es de naturaleza

colágena (no hay fibras elásticas pues no hay reac
ción con la orceína). Los gruesos haces de fibras
se disponen en forma de ondas a lo largo de la pa-
red. Entre ellos se observan pequeños núcleos del-
gados y alargados (aplanados) fuertemente picnóti-
cos, semejantes a los de los fibrocitos de verte-
brados; son bastante abundantes y se distribuyen
uniformemente en toda la capa (en cambio Walker ob
servó conjuntos de núcleos agrupados en ciertas zo
nas). En ocasiones se ven también los citoplasmas
correspondientes y se observa que las células se
orientan según la dirección predominante de las
fibras.

-Pared externa del SCG: está compuest
ta de fibras musculares lisas y de un delgado epi-
telio que tapiza la luz del seno. Muy probablemen-
te se trate de las células mioepiteliales que des-
cribió Walker (op.cit.), pero sería necesario rea-
lizar estudios de microscopía electrónica para com
probarlo.

ii. Seno celómico genital (SCG)

En general es angosto; con frecuenci
a sus paredes contactan entre sí tan íntimamen-

te que ocluyen totalmente la luz del seno. En ocasiones se han visto amebocitos en el interior del SCG y a veces también alguna "célula acidófila" (similar a las del peritoneo visceral).

iii. Saco interno

-Pared interna del SCG: presenta la misma estructura que la pared externa.

-Seno hemal: si bien puede aparecer más o menos distendido, siempre presenta una luz más amplia que la del SCG. Se observan células de tipo ameboide con muchas prolongaciones, otras células que son vesiculosas típicas (ver ítem 3.2.b), y a veces también alguna "célula acidófila". Las paredes del seno hemal son acelulares y tan delgadas que con microscopio óptico es imposible distinguirlas. Según Walker (op.cit.), quien trabajó con microscopía electrónica, ambas paredes - interna y externa - estarían formadas por fibras extremadamente finas.

Por último, es de citar que con la coloración de Leray-Stahl se distinguen perfectamente las membranas basales de los cuatro epite-

lios que participan en la estructura de la pared gonadal. O sea, de afuera hacia adentro, el peritoneo visceral, el epitelio externo del SCG, el epitelio interno del SCG y el epitelio germinativo (foto N° 11).

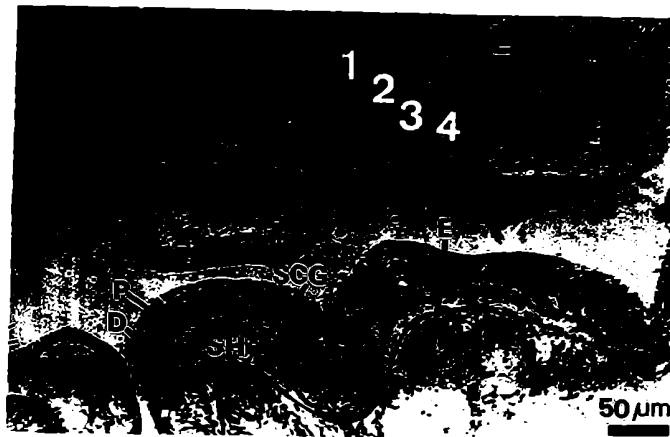


Foto N° 11. Coloración de Leray y Stahl para destacar las membranas basales de la pared de un testículo en Estadío 0.

3.2.2. Espermatogénesis: escala de madurez sexual
en los machos (ver también ítem 6.1.1.).

Se estudió el desarrollo de los testículos a lo largo del año. Se vió que, según la abundancia relativa de las distintas células de la línea germinal, era posible diferenciar distintos estadios. Tal como lo expresa Kim (1968), "los estadios que puedan ser determinados son - en principio - arbitrarios y dependen de la especie y de la definición del autor".

Así, para A. minuta se elaboró una escala de madurez que consta de 7 estadios (Estadios 0 a 6), a saber:

ESTADIO 0 (reposo) (foto N°12):

La pared del testículo se halla aún muy engrosada, tal como en el estadio de post-evacuado (Estadio 6). Sin embargo, de aquí en más el paulatino agrandamiento de los folículos debido a la progresiva maduración, torna cada vez más indistinguibles sus distintas capas.

La capa germinativa es delgada; en ella se ven numerosos núcleos pequeños, oscuros, probablemente pertenecientes a células del tejido



Foto N° 12. Testículo en Estadío 0 (reposo).
Obsérvense manchones de tejido fagocitario
en la luz.

fagocitario, y otros de mayor tamaño, que corresponderían a las células germinales de la generación anterior, que se hallan en lisis. A veces puede verse también entre ellos, otros núcleos grandes, claros, típicos de gonias.

En la luz de los túbulos hay tejido fagocitario en cantidad variada (a veces éste llena totalmente el interior de aquéllos).

En general en este estadio predominan los procesos de lisis.

ESTADIO 1 (comienzo de la espermatogénesis masiva) (fotos N°13 y N°14): En este



Foto N° 13. Testículo en Estadío 1 (comienzo de la espermatogénesis masiva). Individuo con el seno hemal invadido de células "gigantes"



Foto N° 14. Testículo en Estadío 1: detalle de un folículo.

estadio lo más importante es la enorme proliferación de espermatogonias. Así, la capa germinativa es relativamente gruesa, y está compuesta casi exclusivamente por estas células.

En la luz de los túbulos aún hay restos de tejido fagocitario y células germinales en degeneración.

Espermatogonias: escaso citoplasma, núcleo grande, claro, esférico u ovoide, con nucleolo eosinófilo. Diámetro del núcleo: $4,8\text{ }\mu\text{m}$ - $6,4\text{ }\mu\text{m}$; en la tabla I se compara este valor con los obtenidos por otros autores para las espermatogonias y el resto de las células de la línea espermatogénica, en distintas especies.

ESTADIO 2 (foto N°15): Ya se observan "colonnettes" (columnillas) (Delavault, 1960) en formación. Las células que las componen son espermatocitos I dispuestos en hilera: en los cortes aparecen a modo de radios que se insinúan hacia la luz, donde también hay restos de tejido fagocitario. Espermatocitos I: relación nucleoplasmática visiblemente menor que en las espermatogonias; núcleo fuertemente teñido. Diámetro del núcleo: $3.2\text{ }\mu\text{m}$ - $4.8\text{ }\mu\text{m}$.

ESPECIE	AUTOR	ESPERMATOGONIA		ESPERMATOCITO		ESPERMATIDA	ESPERMATOZOIDE
		CELULA	NUCLEO	CELULA	NUCLEO		
<u>Anasterias</u> <u>minuta</u>		—	4, 8-6, 4	—	3, 2-4, 8 (1ario) 2, 4-3, 2 (2ario)	1, 6	2, 4
<u>Odontastor</u> <u>validus</u>	Pearse (1965)	—	4-6	—	3-4	2-3	1, 5
<u>Asterina</u> <u>gibbosa</u>	Delavault y Bruslé (1968)	5-7	—	—	—	—	—
<u>Asterias</u> <u>amurensis</u>	Kim (1968)	2-3	—	3-4	—	—	—
<u>Leptasterias</u> <u>pusilla</u>	Smith (1971)	—	6-6, 5	—	4	1, 5-2, 2	—
<u>Pisaster</u> <u>ochraceus</u>	Nimitz (1976)	7-8	5-6	—	2, 5 (1ario)	1, 4	1, 4

Tabla I. Dimensiones (en μm) de las células de la línea espermatogénica en A. minuta y en distintas especies, según los respectivos autores.



Foto N° 15. Testículo en Estadío 2. Las "colonnettes" en formación se insinúan hacia la luz de los folículos.

ESTADIO 3 (fotos N°16 y N°17): A medida que la espermatogénesis avanza, los folículos van aumentando gradualmente de tamaño, con el consecuente adelgazamiento de sus paredes; al mismo tiempo se resume el espacio libre en los senos hemal y genital. Las "colonnettes" ya están bien desarrolladas, y sus extremos se proyectan hacia el interior de los folículos. De esta manera, queda delimitada una luz que, vista con poco aumento, presenta forma "estrellada", característica de es-

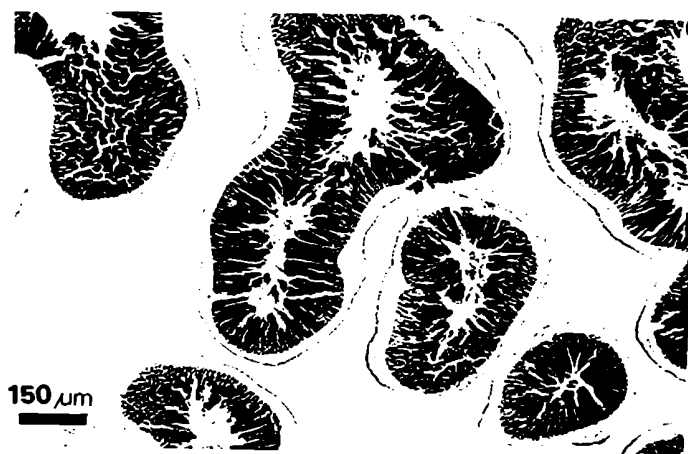


Foto N° 16. Testículo en Estadío 3.
"Colonnettes" bien desarrolladas; luz
del folículo escasa, de forma estrella-
da característica.



Foto N° 17. Testículo en Estadío 3,
detalle de "colonnettes".

te estadio. Cada "colonn^uette" consta aquí de espermatocitos I (en la región basal) y espermatocitos II (en la región apical). Ambos elementos son fácilmente distinguibles entre sí por su forma y tamaño. En efecto, los primeros tienen forma más alargada e irregular que los segundos, que son de contornos redondeados y más pequeños. Si bien al comienzo del estadio ambos coexisten en la "colonn^uette" en número equivalente, a medida que avanza la onda de maduración, los espermatocitos I quedan limitados a la parte basal propiamente dicha, y la mayor parte de la "colonn^uette" está integrada por espermatocitos II. Tal es el aspecto que presenta el testículo hacia el final del estadio, donde ya pueden verse también espermátidas, que se desprenden del ápice de la "colonn^uette" hacia la luz. Inclusive, en los extremos más avanzados de este estadio hay además algunos espermatozoides bordeando la luz, la que queda entonces cada vez más reducida. En la luz de algunos folículos pueden verse pequeñas masas de tejido fagocitario; sólo en ocasiones aisladas es del tipo vesiculoso característico de las hembras (ver: "Tejido fagocitario en las hembras").

Espermatocitos II: diámetro de núcleo: $2.4\mu\text{m}$ -
 $3.2\mu\text{m}$.

Espermátidas: diámetro del núcleo: $1.6\mu\text{m}$.

Espermatozoides: long. de la cabeza = $2,4\mu\text{m}$
(ver ítem 6.2.).

ESTADIO 4 (premaduro) (fotos N°18
y N°19): este estadio se caracteriza porque los
folículos vistos con poco aumento aparentan estar
formados por una corteza y una médula, donde la



Foto N° 18. Testículo en Estadío 4 (prema-
duro). Se observan dos zonas característi-
cas: corteza y médula.

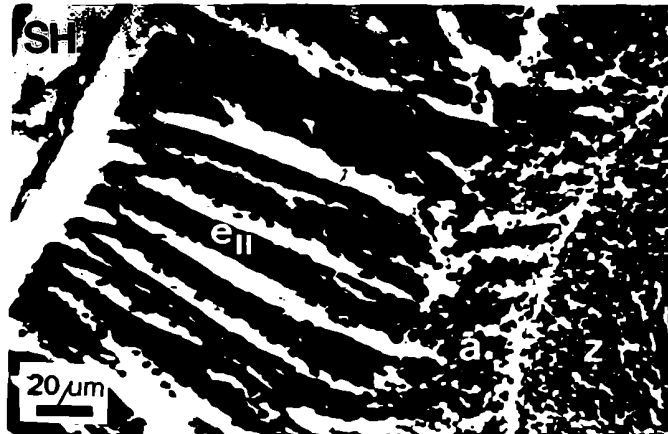


Foto N° 19. Testículo en Estadío 4, detalle.

primera es el conjunto de "colonnettes" y la segunda es la masa central de espermatozoides, que se tiñe intensamente con hematoxilina. Entre ambas, queda una angosta zona ocupada por espermátidas. Las "colonnettes" en este estadio están constituídas casi exclusivamente por espermátocitos II. Sólo quedan unos pocos espermátocitos I en la base, adosados a la pared del órgano.

Hacia el final de este estadio, la zona central del folículo (o sea la ocupada por

espermatozoides) ha aumentado notablemente de tamaño, mientras que las "colonnettes" ya son casi vestigiales: sólo subsisten pequeños grupos de espermátocitos II en la periferia de los folículos. El espesor de la zona de espermatidas, en cambio, no ha cambiado respecto del comienzo del estadio. La pared del testículo está notablemente adelgazada como resultado de su gran distensión.

ESTADIO 5 (maduro) (foto N°20): es

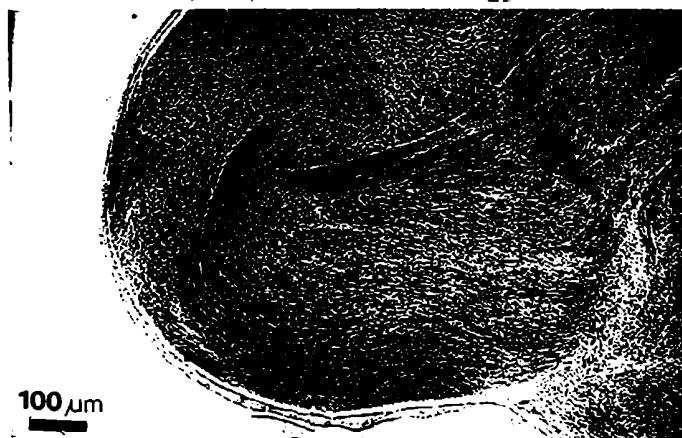


Foto N° 20. Testículo en Estadío 5 (maduro). Pared muy adelgazada; masa de espermatozoides formando ondas.

el momento de madurez total: los testículos alcanzan su tamaño máximo. Todo el lumen está lleno de espermatozoides densamente compactados (en los cortes aparecen formando ondas fuertemente teñidas con hematoxilina). En la periferia en cambio, ellos se disponen laxamente, tal como observó Kim (1968). La pared del testículo alcanza aquí su mínimo espesor, y ya es imposible indentificar las distintas capas debido a la gran distensión. Aún pueden verse restos de "colonnettes", pero ahora ya son sólo pequeños racimos de espermatocitos ("grappes" , según Delavault, 1960). En algunos casos aún se observa un cierto número de espermátidas rodeando la masa de espermatozoides.

ESTADIO 6 (postevacuado) (foto N°21):

Como en los ovarios, es éste el mejor momento para estudiar la estructura de la pared gonadal. Las paredes del testículo aparecen engrosadas debido a la retracción elástica de sus tejidos después de la evacuación; de ahí que la capa de conectivo (colágeno) aparezca bien conspicua. El mesotelio, por la misma razón, se presenta como una gruesa capa cuyos núcleos se hallan muy juntos entre sí, aparentando un epitelio pseudoestratificado. Los

senos genital y hemal son claramente distinguibles; en este último aparece gran cantidad de células. En la capa germinativa se observan restos de "grappes" retraídas. En la luz de los túbulos se ven espermatozoides: generalmente sólo unos pocos pero otras veces, en cambio, son tan numerosos que conforman una masa densa, indicando quizás una evacuación incompleta y asincrónica en los distintos túbulos.



Foto N° 21. Testículo en Estadío 6 (post-evacuado). Detalle de folículos. Pared muy engrosada, "grappes" retraídas, esperma residual.

3.2.3. Oogénesis: escala de madurez sexual en las hembras (ver también ítem 6.1.2.)

Como es general para las hembras de asteroideos (Tyler y Tyler, 1966), la meiosis en Anasterias minuta sólo se completa después de la evacuación; mientras las células germinales permanecen en el ovario, no pasan de oocitos primarios. No obstante ello, sufren durante todo ese tiempo largos y complicados procesos de maduración. Como es bien sabido, dichos procesos son graduales. Sin embargo, por razones de practicidad, es conveniente establecer categorías entre los oocitos, según sus respectivos niveles de maduración.

En el caso de A. minuta y fundamentalmente de acuerdo con las distintas etapas de la vitelogénesis, se distinguen seis tipos (categorías) de oocitos que denominamos respectivamente: oocitos jóvenes, I, II, III, IV, y V. Se arbitró, entonces, al igual que para los machos, una escala de madurez sexual que consta, como en aquéllos, de 7 estadíos (Estadíós 0 a 6). Así, por ejemplo, los estadíos 1 a 5 quedan definidos según el máximo nivel de maduración de los oocitos en cada uno de ellos.

Es decir que un ovario en estadio 1 es aquel en el cual el oocito más avanzado que se puede encontrar, es del tipo I, y así sucesivamente. Además, hay que agregar el estadio 0, que corresponde al predominio de los procesos de lisis, y el estadio 6 que comprende, al igual que en el caso de la espermatoogénesis, a los individuos recientemente evacuados. Los oocitos jóvenes están presentes en todos los estadios, en número más o menos constante.

A continuación se describen los elementos en las etapas tempranas de la oögenesis; los oocitos I a V se describirán más adelante, al definir los distintos estadios.

Oogonias (foto N°22): Pueden aparecer en el ovario en cualquier estadio, excepto el estadio 0, siempre en número reducido. Se encuentran en la pared ovárica, entre las abundantes células foliculares que forman el estroma del epitelio germinativo. Generalmente están agrupadas en "nidos": se cuentan, en el corte, de 3 a 18 oogonias por nido (promedio: 9 oogonias). Todas éstas fueron formadas, probablemente, por división mitótica de una o más células parentales (Chia, 1968); rara vez

se observan oogonias aisladas. Son células grandes - comparadas con las foliculares que las rodean - y de núcleo grande en relación al volumen celular (de aquí en más la relación nucleoplasmática irá disminuyendo paulatinamente en las sucesivas etapas del crecimiento del oocito). El citoplasma de las oogonias es homogéneo, de color rosado en la coloración de Hematoxilina-eosina.



Foto N° 22. Nido de oogonias en el epitelio germinativo de un ovario.

El núcleo es esférico u ovoide, de cromatina en grumos gruesos. Diámetro medio del núcleo 3 a 5 μ m; en la tabla II se compara este valor con los obtenidos por otros autores para las oogonias de distintas especies.

E S P E C I E	A U T O R	O O G O N I A	
		CELULA	NUCLEO
<u>Anasterias minuta</u>		—	3 - 5
<u>Leptasterias hexactis</u>	Chia (1968)	10 - 15	5 - 7
<u>Asterina gibbosa</u>	Bruslé y Delavault (1968)	8 - 10	—
<u>Asterias amurensis</u>	Kim (1968)	2 - 3	—
<u>Leptasterias pusilla</u>	Smith (1971)	9 - 11	5 - 6
<u>Pisaster ochraceus</u>	Nimitz (1976)	aprox.5	—

Tabla II. Dimensiones (en μ m) de las oogonias en A. minuta y en distintas especies, según los respectivos autores.

Oocito joven: Esta categoría es muy amplia, ya que incluye a todos los oocitos previtelogénicos, aunque entre ellos existen, en verdad, distintos niveles de maduración. Así, a partir de las oogonias surgen los primeros oocitos jóvenes, a los que se localiza inmersos en el epitelio germinativo del ovario. Presentan una forma triangular a fusiforme en el corte; núcleo esférico u ovoide, con cromatina filamentosa y con un nucleolo bien esférico y acidófilo (avacuado o con una única vacuola). La célula mide, por entonces, de 15 a 40 μ m. (Al efectuar las mediciones de los distintos tipos de oocitos en cada estadio - tabla III - este grupo de oocitos jóvenes de pequeño tamaño fue descartado).

A medida que crece, se va modificando el aspecto del oocito joven: la célula se va redondeando cada vez más, hasta adoptar la forma esférica o piriforme. El núcleo aumenta mucho de tamaño (de aquí en más: "vesícula germinativa" o V.G.) y se individualizan los cromosomas; el nucleolo se vacuoliza progresivamente hasta presentar numerosas vacuolas de distintos tamaños. En cierto momento el oocito joven, rodeado de una

TIPO DE OOCITO	ESTADIO	CELULA	NUCLEO (V.G)	NUCLEOLO	
JOVEN	1	100,3	31,2	11,4	
	2	115,5	36,0	13,5	
	3	183,2	43,6	14,7	
	4	98,2	32,2	11,7	
	5	160,0	47,8	16,5	
	6	68,7	27,3	10,0	
	(*)	107,7	33,0	11,9	N=128
I	1	354,2	69,8	20,1	
	2	307,4	63,8	21,6	
	3	247,5	62,6	17,3	
	4	343,2	66,0	19,8	
	5	531,5	61,2	20,5	
	6	252,3	60,0	18,8	
	(*)	341,4	66,1	20,2	N=163
II	2	427,9	80,4	20,8	
	3	404,7	72,0	18,1	
	4	598,4	74,2	19,8	
	(*)	429,3	78,6	20,3	N= 81
III	3	603,5	77,4	19,9	
	4	666,6	81,4	19,8	
	(*)	609,9	77,9	19,9	N= 59
IV	4	1320,4	99,5	19,3	N= 61
V	5	1328,0	110,0	19,8	N= 26

Tabla III. Dimensiones (en μm) correspondientes a los distintos tipos de oocitos en los diferentes estadios, y valores promedio (*) para cada tipo.
(N=número de oocitos medidos).

capa de células foliculares, hace protrusión en la luz del ovario. Allí continúa creciendo, siempre adherido por uno de sus extremos al epitelio germi-
nativo. Mientras ocurren todos estos cambios, el diámetro de la célula oscila entre 50 y 150 μm (aunque en ocasiones alcanza a 200 o 250 μm).

A continuación se describen los sucesivos estadios que constituyen la escala de madurez sexual.

ESTADIO 0 (reposo) (foto N°23): La

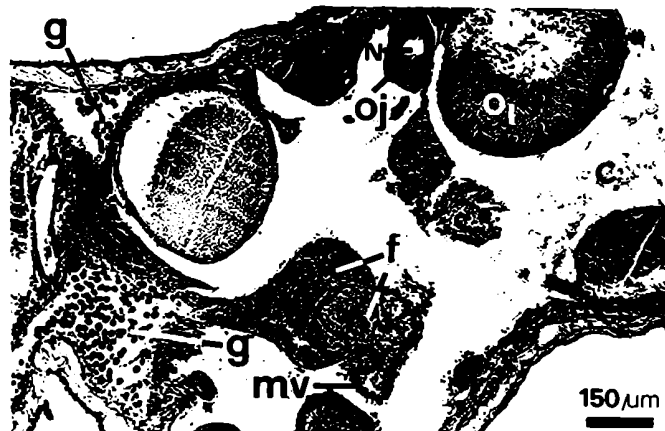


Foto N° 23. Ovario en Estadío 0 (reposo). Individuo con células "gigantes". Obsérvese un oocito en fagocitosis.

pared gonadal se presenta aquí con sus capas muy claramente distinguibles. Es aquí - y en el estadio 6 (post-evacuado) - cuando mejor se puede estudiar su estructura. Los senos hemal y genital se hallan distendidos y se observan en su interior distintos tipos de células, laxamente dispuestas. Sin embargo, lo más característico de este estadio es la autólisis de los oocitos. Se observan libres en la luz del ovario, o aún unidos a la pared del órgano, muchos oocitos (aparentemente oocitos I) que están sufriendo este proceso. El citoplasma aparece entonces parcial o totalmente disgregado, con su material lisado, y frecuentemente con abundantes vacuolas en la periferia. El núcleo, a su vez, también sufre autólisis y en su lugar se ve un "espacio vacío", con el material nuclear en forma de medialuna, retraído contra uno de los bordes. El nucleolo, fuertemente picnótico, presenta enormes vacuolas. Dichos oocitos presentan muchas veces forma poliédrica, angulosa. Contra la pared se observan también oocitos jóvenes, con el citoplasma invadido de pequeñas vacuolitas y cuyo núcleo está en las mismas condiciones que en los demás oocitos. Además aparecen con relati-

va frecuencia libres en la luz, oocitos en distintos grados de fagocitosis. A veces también se ven pequeños manchones de tejido fagocítico y/o restos de material citoplasmático disgregado.

ESTADIO 1 (foto N°24): También aquí la pared del ovario presenta sus capas bien distinguibles. El epitelio germinativo está muy engrosado, y entre las abundantes células accesorias es frecuente encontrar oogonias y oocitos jóvenes tempranos. Todo ello revela activa proliferación. Con poco aumento, se distinguen netamente

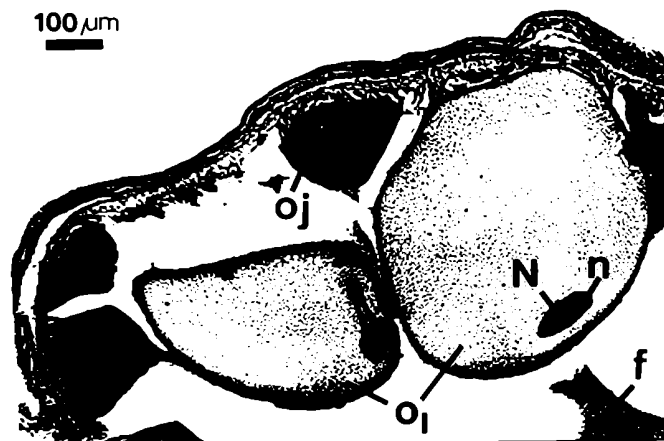


Foto N° 24. Ovario en Estadio 1.

en este estadio dos "poblaciones" distintas de oocitos: los más pequeños son oocitos jóvenes más o menos avanzados; los otros, son oocitos I.

Oocito I: Posee forma variada, según el lugar que ocupe en el ovario. El citoplasma es típicamente "maillé", con numerosas pequeñas plaquetas de reacción acidófila generalmente débil. Al comienzo, la vesícula germinativa es aún central y más o menos esférica; los cromosomas se individualizan al igual que en el oocito joven avanzado.

Cuando el oocito I va creciendo, la vesícula germinativa se va achatando y sus bordes se van retrayendo. De esta manera va adoptando cada vez más la forma estrellada que presenta en oocitos de tipos más avanzados. El material cromosómico, entonces, se halla tan finamente disperso que es incapaz de teñirse; el nucleolo se ubica en uno de sus extremos. Paralelamente con estos cambios morfológicos, existe un cambio de posición de la V.G. dentro de la célula. En efecto, ella migra hacia un extremo del oocito, generalmente aquél que limita con la luz del ovario. Por otra parte, en este momento ya se ha formado la membrana vitelina, de constitución homogénea

y de tinción acidófila. En cuanto a las células foliculares que envuelven al oocito, al principio se las observa dispuestas en dos o tres capas aparentes, con sus núcleos muy juntos. Sin embargo, al aumentar de volumen toda la célula, se van distendiendo cada vez más, con la consiguiente separación entre sus núcleos. Es difícil entonces diferenciar las capas. Es preciso aclarar que de aquí en más la forma y ubicación de la V.G. con su nucleolo, así como el aspecto de la envoltura folicular, son invariable. O sea, los oocitos II, III, IV y V tendrán estas mismas características, aunque otras dimensiones. Diámetro medio del oocito I: 341,4 μm ; diámetro medio de núcleo: 66,1 μm ; diámetro medio del nucleolo: 20,2 μm .

ESTADIO 2 (foto N° 25): La pared del ovario muestra básicamente el mismo aspecto que en el estadio anterior. Se encuentran en el interior del órgano oocitos jóvenes, oocitos I y oocitos II.

Oocito II: Marca el inicio de la "vitelogénesis basófila". Aparecen entonces pequeños gránulos basófilos dispersos entre las plaquetas acidófilas ya presentes en el oocito I. A medida que progresa la maduración, se van formando verdaderas plaquetas vitelinas, de tamaño cada vez mayor y de tinción

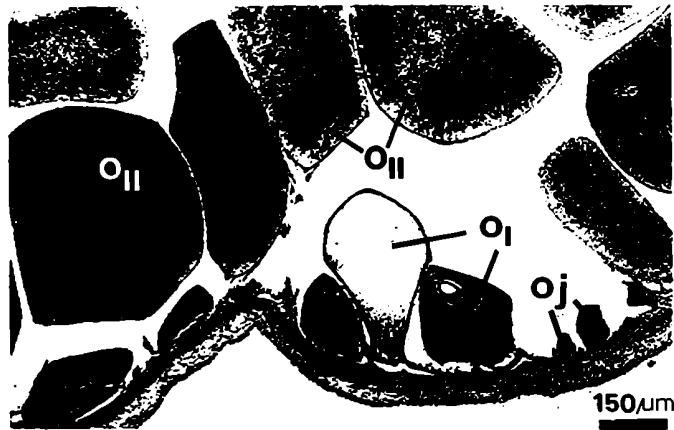


Foto N° 25. Ovario en Estadío 2.

siempre bien basófila. Al comienzo ellas ocupan sólo un área determinada del oocito, pero a medida que el proceso avanza, se van extendiendo cada vez más dentro de la célula. Finalmente, y debido a la gran afinidad que posee este tipo de vitelo por la hematoxilina, todo el oocito aparece, visto con poco aumento, de color violeta intenso característico. Con mayor aumento se pueden ver las plaquetas acidófilas, que quedaron semiocultas por el desarrollo masivo de las otras. Diámetro medio del oocito II: 429,3 μm ; diámetro medio del núcleo: 78,6 μm ; diámetro medio del nucleolo: 20,3 μm .

ESTADIO 3: Debido al crecimiento de los oocitos, la pared del ovario se encuentra más distendida que en estadios anteriores, por lo que sus distintas capas ya no son tan evidentes. La luz del órgano se halla totalmente ocupada por oocitos en distintas etapas de crecimiento. Se encuentran los descriptos al tratar los estadios anteriores y el siguiente tipo de oocito:

Oocito III: Las plaquetas basófilas y acidófilas se han desarrollado aquí enormemente y se las observa entremezcladas entre sí, de modo variable según las zonas del citoplasma. Ambos tipos de

plaquetas poseen forma semejante: contornos circulares a poliédricos. Sin embargo, se diferencian perfectamente una de otra, por las siguientes características:

-plaquetas basófilas: son de contextura granulada, de pequeño tamaño y de tinción homogénea. Tienen gran afinidad por los colorantes básicos y no la tienen por los Sudanes. Son PAS+ y no se tiñen con Azul de Alcian.

-plaquetas acidófilas: contrariamente a las anteriores, son de contextura lisa y de mayor tamaño. Se tiñen de modo heterogéneo, quedando así determinadas en cada plaqueta dos zonas: una central y otra periférica, de características tintoriales diferentes:

i) zona central: intensamente PAS+. Gran afinidad por la Eosina y la Fucsina ácida. Se tiñe con los Sudanes y con Azul de Alcian.

ii) zona periférica: PAS+. Afinidad por el Azul de anilina. En la coloración de Hematoxilina-Eosina toma ambos colorantes a la vez. Se tiñe intensamente con los Sudanes y con Azul de Alcian.

De todos estos resultados se des-

prende, ante todo, que la naturaleza química del vitelo en los oocitos de A. minuta es bastante compleja. A grandes rasgos, sin embargo, intervenirían en la composición de las plaquetas basófilas, glucoproteínas y/o mucopolisacáridos neutros.

En las plaquetas acidófilas, además de estas sustancias existirían lípidos y mucopolisacáridos ácidos, todos dichos componentes en cantidades variables según se trate de la zona de la plaqueta: central o periférica.

Diámetro medio del oocito III: 609,9 μm ; diámetro medio del núcleo: 77,9 μm ; diámetro medio del nucléolo: 19,9 μm .

ESTADIO 4 (premaduro): En este estadio el ovario alcanza su tamaño máximo; la pared se halla totalmente distendida, por lo que es casi imposible distinguir sus capas. El interior del órgano está totalmente ocupado por gran cantidad de oocitos de enorme tamaño: oocitos IV. Los escasos espacios que quedan entre ellos, están llenos de tejido vesiculoso típico (ver: "Tejido fagocitario en la hembra"). Por ello en este estadio (y el siguiente) el ovario presenta en los cortes un característico aspecto compacto. Contra la pared, y siempre más o menos comprimidos por

el desarrollo de los oocitos IV, se encuentran oocitos jóvenes y de los tipos I, II y III.

Oocito IV: En este momento el oocito posee ya su tamaño definitivo: sólo le resta madurar. Las plaquetas acidófilas han crecido enormemente (hasta 40 μm de diámetro). Las basófilas, siempre pequeñas, son cada vez más escasas y parecen ir disminuyendo gradualmente en densidad desde el centro hacia la periferia de la célula. De esta manera, los oocitos más avanzados presentan el citoplasma lleno de las grandes plaquetas acidófilas, y sólo quedan unas pocas basófilas relegadas a la zona periférica. Diámetro medio del oocito IV: 1.320,4 μm ; diámetro medio del núcleo: 99,5 μm ; diámetro medio del nucleolo: 19,3 μm .

ESTADIO 5 (maduro) (foto N°26): El ovario presenta un aspecto muy semejante al del estadio anterior. Los oocitos ya alcanzaron su madurez total y están listos para ser evacuados (oocitos V). Pueden verse oocitos jóvenes y oocitos I comprimidos contra la pared. No aparecen, en cambio, oocitos II, III, IV y V. Esto podría deberse a dos motivos distintos: o todos ellos han madurado y ya son oocitos V (lo cual parece poco proba-

ble), o bien han sido fagocitados por el abundante tejido vesiculoso.

Oocito V: Ya no hay trazas de vitelo basófilo; sólo se ven enormes plaquetas acidófilas. En lo demás, como indican los siguientes valores, las dimensiones de esta célula son muy semejantes a las del oocito IV. Diámetro medio del oocito V:

1.328,0 μm ; diámetro medio del núcleo: 110,0 μm ;

diámetro medio del nucleolo: 19,8 μm .

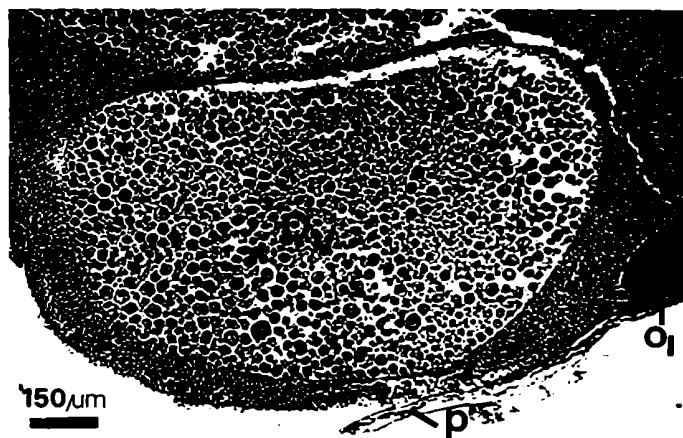


Foto N°26. Ovario en Estadío 5, detalle. Pared muy adelgazada; nótese el característico aspecto compacto del órgano en este estadío.

ESTADIO 6 (post-evacuado) (foto

Nº 27): El ovario ya ha sido evacuado y por eso se



Foto Nº 27. Ovario en Estadío 6 (post-evacuado).
Obsérvese un oocito parcialmente invadido por
células vesiculosas.

lo ve muy pequeño, retraído. En el corte histológico se ve la pared del órgano muy engrosada y, como ya se dijo, con sus capas muy bien diferenciadas. El mesotelio aparece más o menos plegado, pseudoestratificado; los flagelos son bien visibles. Se observa gran cantidad de células en el seno hemal. El interior del ovario aparece bastante laxo, con grandes espacios vacíos. Los únicos

oocitos que quedaron son: oocitos jóvenes y tipo I. Además pueden aparecer, de tanto en tanto, libres en el lumen, otros oocitos más maduros que no fueron evacuados y que muestran distintos grados de desintegración, generalmente por fagocitosis. Se encuentran también manchones, de tamaño variado, de tejido vesiculoso, así como restos dispersos de material citoplasmático lisado. Por último, pueden aparecer en algunos casos grandes plaquetas vitelinas dispersas en la luz, provenientes de oocitos maduros que no fueron evacuados y que se hallan en vías de desintegración por autólisis.

Los valores promedio de las dimensiones de cada tipo de célula en la ovogénesis, se obtuvieron luego de medir más de 500 oocitos de los distintos tipos, de cortes histológicos de ovarios en todos los estadios (tabla III). Se observa, en primer lugar, que el aumento de tamaño de la célula tiene lugar hasta que ésta llega a oocito IV. O sea que, aparentemente, entre el oocito IV y el V sólo existirían diferencias en el grado de maduración. A su vez, los cambios más notorios de tamaño ocurrirían al pasar de joven a

I, y luego de III a IV. En efecto, en ambos casos el diámetro de los oocitos al cambiar de categoría aumenta a más del doble de su valor. Comparando ahora las dimensiones de la V.G. entre los distintos tipos de oocitos, se ve que ella aumenta de tamaño desde el principio hasta el final (excepto entre los oocitos II y III, en que parece no haber diferencias significativas). Al igual que lo que ocurre con la célula toda, el diámetro de la V.G. se duplica cuando el oocito joven pasa a I. El nucleolo, por otra parte, aumenta considerablemente de tamaño también en este pasaje. Sin embargo, de allí en más el diámetro permanecerá constante hasta el final (aproximadamente 20 μ m).

3.2.4. Tejidos fagocitarios

a. Tejido fagocitario en los machos.

En los machos de A. minuta el tejido fagocitario está presente - aunque en distintas proporciones - en todos los estadíos. Sin embargo, si bien en las hembras el tejido fagocitario es bien típico ("tejido vesiculoso"), en los machos existe una relativa diversidad en los caracteres de sus células, lo que complica en gran medida su

estudio. No obstante, existen ciertas características generales: son células relativamente pequeñas, redondeadas, de núcleo esférico con cromatina más o menos densa. El citoplasma tiende a ser acidófilo y a veces se presenta muy vacuolado, a semejanza de las células del tejido vesiculoso de las hembras. Cuando el testículo está recién evacuado (Estadio 6) y en el estadio siguiente (Estadio 0) se observan en el lumen masas de tejido fagocitario (foto N°12). A medida que proliferan las células germinales, este tejido va disminuyendo en cantidad hasta que, en individuos premaduros y maduros, quedan sólo pequeños islotes aislados de células fagocitarias, semiocultas por el abundante esperma. No obstante, en ningún caso fue posible comprobar la existencia en el interior de estas células, de espermatozoides fagocitados, como citan otros autores (Delavault, 1960; Smith, 1971).

b. Tejido fagocitario en las hembras ("tejido vesiculoso") (foto N°28)

Excepto en los meses de invierno (mayo a agosto), aparece este tejido en los ovarios de A. minuta durante todo el resto del año. En los estadios 4 y 5, donde los oocitos alcanzaron su ta-

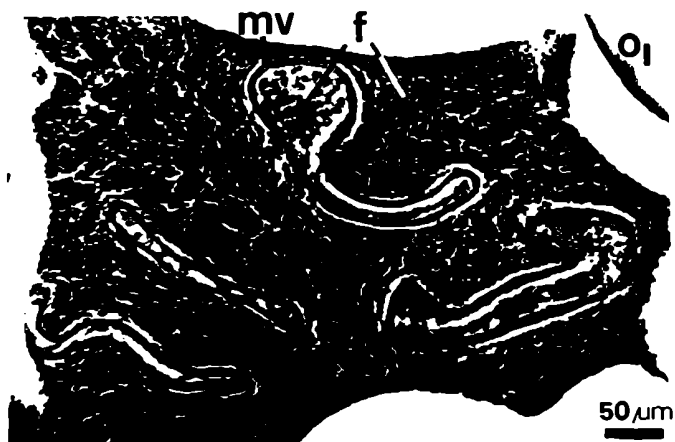


Foto N° 28. Ovario: detalle de un islote de tejido fagocitario con "cicatrices" de oocitos que fueron fagocitados.

maño máximo, el tejido se hace bien evidente relleno por completo los intersticios entre aquéllos, dando al ovario el aspecto compacto que caracteriza a dichos estadios (foto N°26). Está formado por células de forma globosa, con uno o dos núcleos de posición excéntrica. El citoplasma es típicamente vesiculoso: lleno de grandes vacuolas de distintos tamaños.

3.2.5. Células "gigantes"

En ciertos especímenes (sólo se vio en 8 casos, de un total de 240 individuos examinados histológicamente, o sea que la frecuencia es del 3,3%), el seno hemal está en mayor o menor medida invadido por enormes células, que llamaremos "células gigantes" (fotos N°13, N°14 y N°23). Algunas de ellas pueden aparecer también en el seno genital, y otras aún entre las células del peritoneo visceral. La medición de 50 células gigantes arrojó los siguientes resultados: diámetro medio de la mayoría de las células: 15 μ m; diámetro máximo: 20 μ m; diámetro mínimo: 8 μ m (aunque estas últimas son muy escasas). El núcleo es polilobulado y sus lóbulos, de tamaño y forma variadas, se disponen en anillo ocupando gran parte del volumen de la célula. En el corte se observan de 1 a 4 nucleolos prominentes, fuertemente acidófilos. La cromatina es en general bastante laxa; con frecuencia se ven figuras de mitosis (fotos N°29, N°30 y N°31).

Por último, es preciso aclarar que la existencia o no de células gigantes en las gónadas de los distintos individuos parece ser un

fenómeno independiente del sexo y estadio del animal, así como de la época del año en que éste fue colectado.



Foto N°29. Detalle de células "gigantes".
Compárese su tamaño con el de las células del peritoneo.

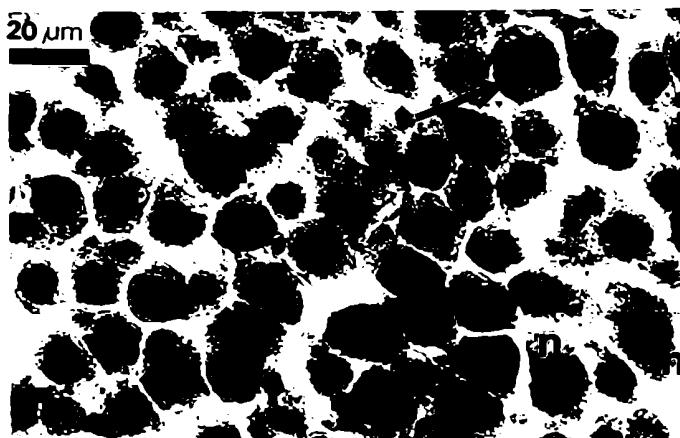


Foto N° 30. Detalle de células "gigantes" (coloración tricrómica, para destacar los nucleolos). La flecha señala una célula en metafase.

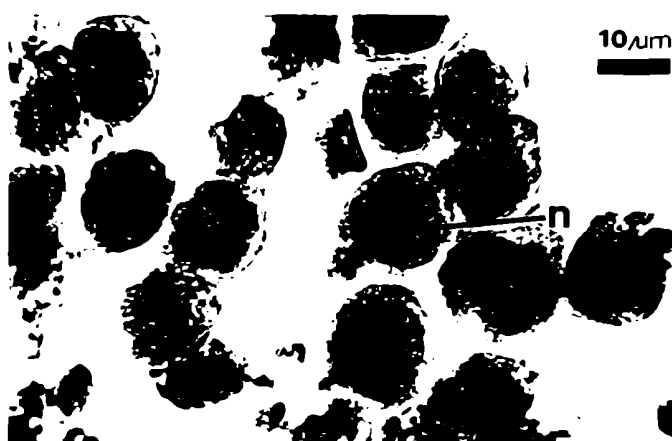


Foto N° 31. Detalle de células "gigantes" (íd. foto N°30, pero con mayor aumento).

3.3. FECUNDIDAD

Para los estudios de fecundidad, se utilizaron hembras totalmente maduras (ovarios en estadio 5) o en maduración avanzada (estadio 4). Se realizaron los desgastes según la técnica explicada en el ítem 2.5., y las láminas histológicas resultantes fueron observadas en el microscopio (foto N°32).



Foto N° 32. Aspecto de una lámina histológica de un ovario, obtenida por desgaste. Nótese la refringencia de las plaquetas vitelinas en los oocitos maduros o en maduración avanzada. Contra la pared se observan oocitos jóvenes.

Si bien - como es lógico debido al espesor del corte y a la falta de coloración- no es posible discernir en los preparados así obtenidos demasiados detalles histológicos, la técnica sin embargo resultó harto satisfactoria para los propósitos que se buscaban. En efecto, sobresalen particularmente de entre el conjunto de oocitos, aquellos que ya están maduros o en maduración avanzada. Como se vió en el ítem 3.2.3., el diámetro medio de los oocitos IV y V es aproximadamente el mismo. Además, ambos tipos poseen el citoplasma cargado de enormes plaquetas vitelinas, lo que les otorga el típico aspecto refringente. Estas dos características hacen posible, a través de la técnica utilizada, el diagnóstico instantáneo de los oocitos de importancia para la determinación de la fecundidad de la especie.

Una vez efectuados los recuentos necesarios y los cálculos correspondientes, fueron analizados los resultados. En primer lugar, la variación de los valores de N_A (número promedio de oocitos por campo microscópico) permitió distinguir en el conjunto de ejemplares, tres grupos bastante definidos A, B y C. Dichos grupos corresponden, eviden-

temente, a niveles de maduración creciente: así, los más maduros son los del grupo C, donde N_A presenta los valores más bajos. En efecto, dado que siempre se observa más o menos la misma compactación en el ovario, el hecho de que aparezca un reducido número de oocitos en un determinado campo microscópico (bajo valor de N_A), está siempre asociado con un gran tamaño de aquéllos, es decir con un alto grado de madurez.

En las tablas IV a VI se dan las características de los individuos pertenecientes a los grupos A, B y C respectivamente. Junto con el volumen gonadal V_g y el número de oocitos N_A , se han consignado los valores de V_v . Estos dan una idea de la superficie relativa que ocupa el número N_A de oocitos en el campo microscópico correspondiente. Además figuran los resultados de los cálculos de fecundidad real F_r , y de una fecundidad F_v obtenida en base al promedio de los volúmenes gonadales del conjunto muestral.

De los valores obtenidos se desprende que la fecundidad varía fundamentalmente en función del volumen gonadal, siendo por ello mucho menor la variabilidad obtenida cuando aquélla es

INDIVIDUO Nº	FECHA	V_g (en cm^3)	N_A	F_r	F_v	V_v
1	diciembre 1979	0,65	8,00	881,8	651,2	0,98
2	" "	0,30	8,00	407,0	651,2	0,98
3	" "	0,20	6,75	213,3	341,3	0,97
4	enero 1980	0,20	7,25	234,0	374,4	0,98
5	" "	0,20	7,33	241,5	386,4	0,97
6	" "	0,30	6,71	312,5	333,3	0,98
7	" "	0,15	6,16	137,5	293,3	0,98
		$\bar{V}_g = 0,29$	$\bar{F}_r = 346,8$			

Tabla IV. Valores obtenidos en el cálculo de fecundidad en individuos del grupo A.

INDIVIDUO Nº	FECHA	V_g (en cm^3)	N_A	F_r	F_v	V_v
1	Febrero 1979	0,55	4,57	322,2	298,8	0,98
2	" "	0,70	4,66	428,2	312,0	0,96
3	" "	0,60	4,20	316,5	269,0	0,94
4	Marzo	0,50	4,71	320,0	326,4	0,91
5	" "	0,50	5,00	342,5	349,4	0,95
6	Febrero 1984	0,30	4,50	189,5	322,2	0,81
7	" "	0,20	4,33	115,5	294,5	0,86
8	" "	0,40	5,33	325,7	415,2	0,81
		$\bar{V}_g = 0,47$	$\bar{F}_r = 295,0$			

Tabla V. Valores obtenidos en el cálculo de fecundidad
en individuos del grupo B.

referida a un volumen determinado. Así, la variabilidad de F a lo largo de la muestra es mucho menor que la de F_r .

En la Fig. 6 se observa la variación de la fecundidad real en relación con los distintos valores de volúmenes gonadales, para cada grupo. Se ve que en todos los casos el aumento del volumen gonadal lleva aparejado un incremento de la fecundidad real, en individuos de un nivel de maduración semejante.

En efecto, para el grupo A el valor mínimo de fecundidad corresponde al ejemplar N°8, y es de 137,5, mientras que el más alto es el del individuo N°1, en el que la fecundidad alcanza a 881,8. Sus correspondientes volúmenes gonadales son también respectivamente los valores mínimos y máximos del grupo: $0,15 \text{ cm}^3$ y $0,65 \text{ cm}^3$.

Algo semejante sucede con el grupo B, donde al individuo N°7 corresponden los mínimos valores ($F_r = 115,5$; $V_g = 0,20 \text{ cm}^3$). Por otro lado, el individuo N°2 es el que posee los valores máximos ($F_r = 428,2$ y $V_g = 0,70 \text{ cm}^3$).

Por último, en el grupo C se ve que ocurre lo mismo: el individuo N°9 presenta $F_r =$

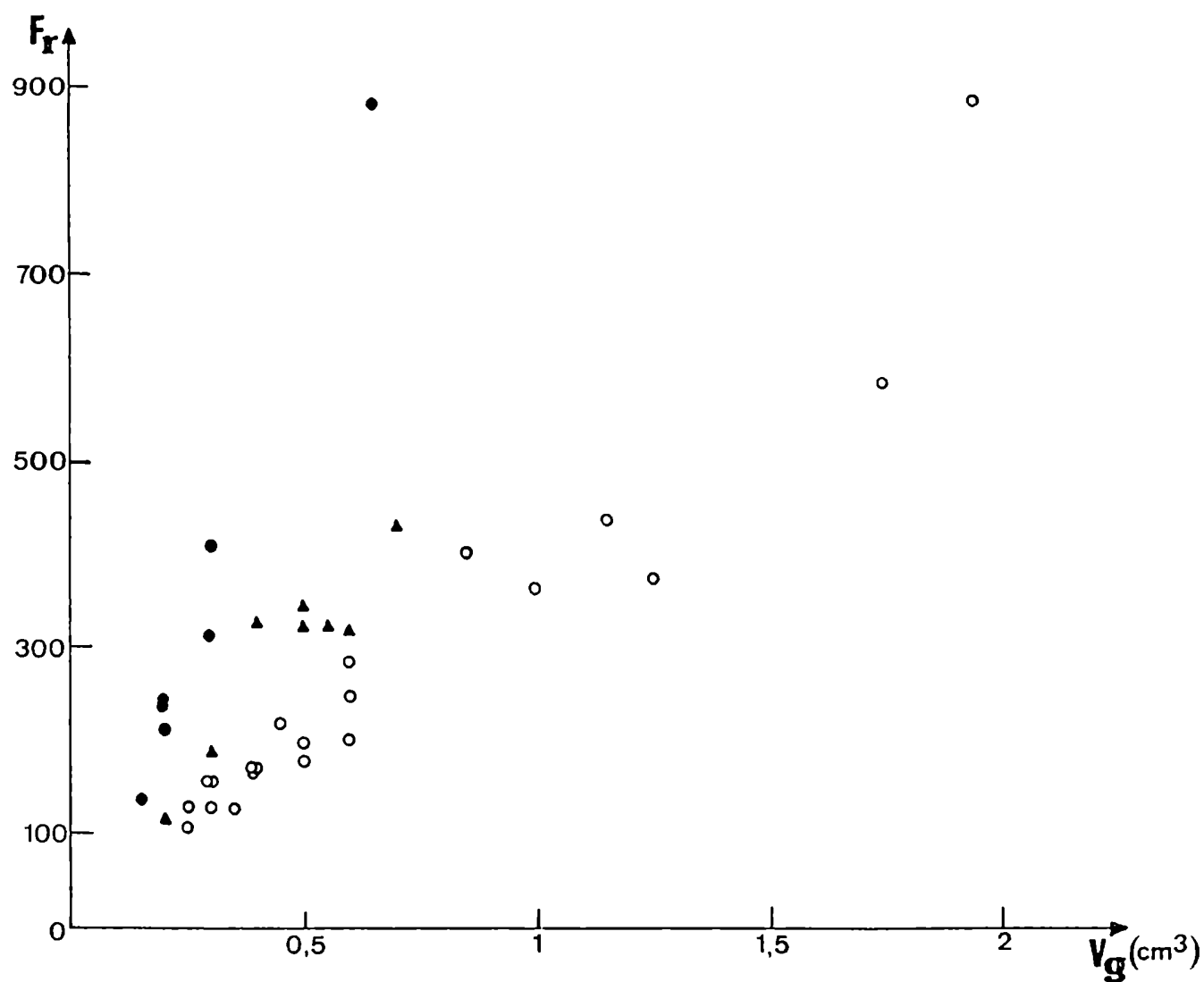


Figura 6. Variación de la fecundidad real F_r en función del volumen gonadal V_g para los distintos grupos (● : grupo A; ▲ : grupo B; ○ : grupo C).

105,6 y $V_g = 0,25 \text{ cm}^3$, siendo ambos los valores mínimos. Al individuo N°6 en cambio, corresponden los máximos valores de F_r y V_g ($F_r = 880,8$; $V_g = 1,95 \text{ cm}^3$) (Ver Apénd. 6.3.2.a.).

Por otra parte, comparando en las tablas IV a VI los valores promedio de F_r y V_g en los distintos grupos, llama la atención un hecho significativo. En efecto, en la medida que va aumentando el grado de maduración de un grupo a otro, va disminuyendo paralelamente la fecundidad, a pesar de que las gonadas correspondientes poseen cada vez un volumen mayor. Esto podría explicarse de la siguiente manera: de todos los ovarios analizados, sólo los que se encontraban totalmente maduros arrojaron los verdaderos valores de fecundidad de la especie. En cambio, en aquellos que aún se hallaban en una etapa previa (maduración avanzada pero aún no totalmente maduros), la fecundidad obtenida ha sido en realidad la "fecundidad potencial".

Esto confirma lo observado al realizar los estudios histológicos (ítem 3.2.3.) sobre los procesos de lisis (autólisis y fagocitosis) de oocitos dentro del ovario. Es decir que el número

de oocitos que se evacúa cada año en la época de puesta es siempre inferior al número total de oocitos que realmente se había formado en el ovario.

Estos resultados se hallan avalados por los recuentos de crías obtenidas directamente de la cámara incubadora de hembras ovígeras. Como se ve en la tabla VII, el número de crías oscila entre 38 y 226. Sin embargo, estos valores se encuentran bastante por debajo de los rangos de F_r obtenidos, lo cual indicaría preliminarmente que no todos los oocitos maduros son viables. Evidentemente, en condiciones naturales el número de aquéllos existentes en el ovario - según los cálculos de fecundidad - se verá reducido paulatinamente en sucesivas etapas. Así, sólo un cierto porcentaje de dichos oocitos logrará completar su desarrollo hasta poder iniciar su vida independiente.

En efecto: en primer lugar, no todos los oocitos que maduraron serán evacuados, ya que como se dijo anteriormente, algunos de ellos permanecerán en el ovario y serán destruídos. En segundo lugar, habrá quizás un cierto porcentaje de los evacuados que no será viable, es decir que no logrará

INDIVIDUO N°	FECHA	ESTADO DE DESARROLLO	CANTIDAD DE EMBRIONES	
1	Marzo 1979	huevos	120	
2	" "	"	155	
3	" "	"	180	Promedio: 180 huevos/ hembra
4	" "	"	199	
5	"	"	226	
6	Abril 1981	"	197	
7	Junio 1973	peq.estrellas	133	
8	Julio "	" "	138	
9	Agosto "	"	89	
10	Agosto 1979	" "	95	Promedio: 90 peq.estr./ hembra
11	Sept. "	" "	38	
12	Octubre "	"	47	

Tabla VII. Recuento de crías de la cámara incubatriz de distintas hembras.

una fecundación exitosa. Por último, seguramente no todos los huevos fecundados prosperarán en su desarrollo. En efecto, en la tabla VII se observa que el número promedio de huevos en la cámara de cría es de 180, es decir justo el doble del número de "pequeñas estrellas" (90); o sea que durante el desarrollo debe existir también una cierta mortandad (ver Apéndice 6.3.2.b.).

3.4. CICLO REPRODUCTIVO

3.4.1. Índice gonadal

Las variaciones del índice gonadal a lo largo del año se ilustran en la Fig. 7. Allí se observa que, a partir del valor máximo alcanzado en febrero, desde allí hasta mayo tiene lugar un brusco descenso de los índices (es decir que la época de puesta es en el comienzo del otoño del Hemisferio Sur). A continuación, y hasta agosto, los valores se mantienen más o menos constantes, en un nivel mínimo. Luego de este período, con la primavera comienza otra vez el ascenso bastante continuo del I.G. hacia los valores máximos del verano. O sea que la curva se puede dividir en 3 fases o períodos:

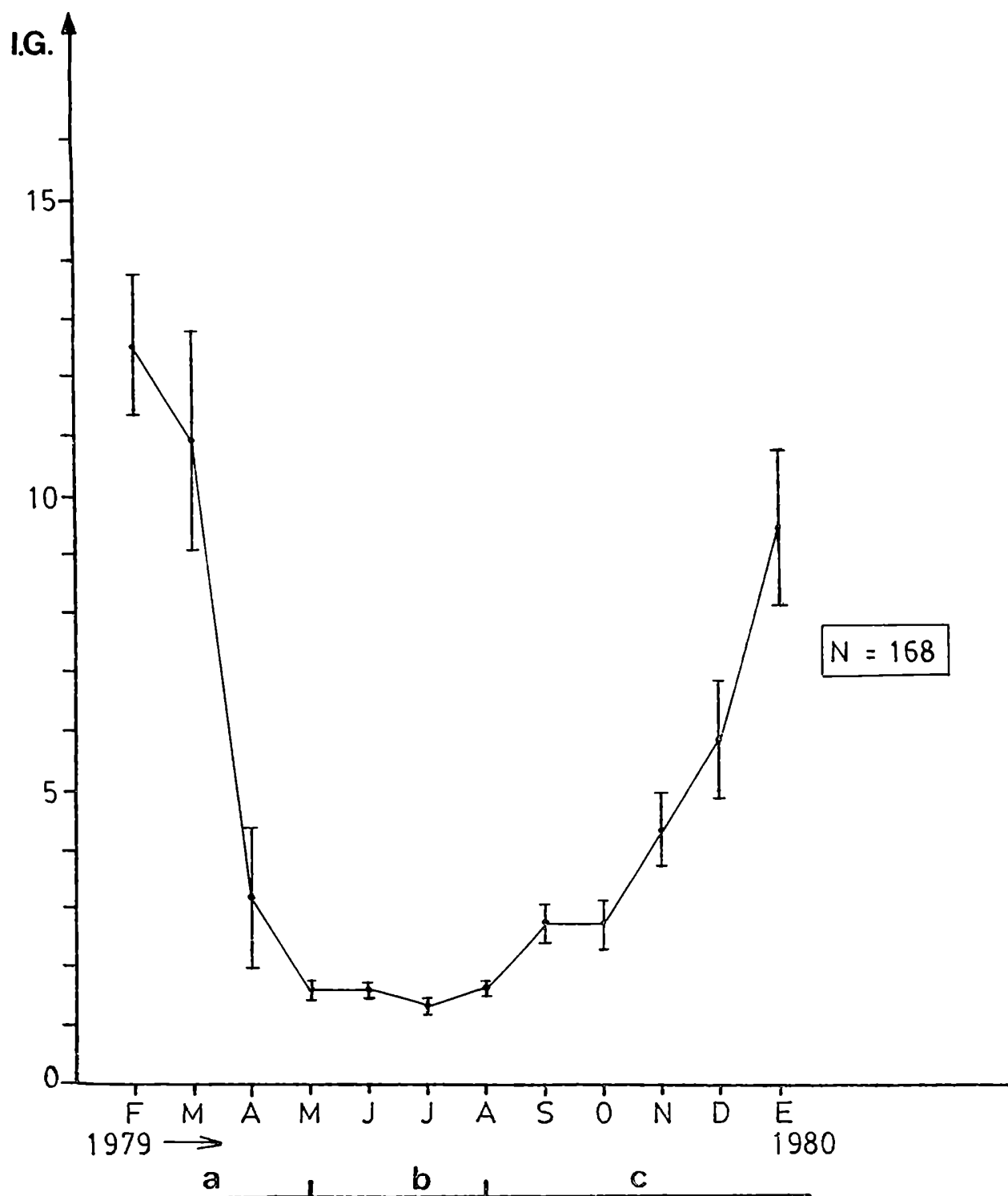


Figura 7. Índice gonadal de *A. minuta* durante un período de un año (los segmentos verticales indican el error estándar ES).

- a. fase decreciente (febrero a mayo)
- b. fase de mínimo I.G. (mayo a agosto)
- c. fase creciente (agosto a febrero)

Ahora bien, comparando estos resultados con los obtenidos del muestreo mayo-noviembre de 1973 (Fig. 8), se evidencia una coincidencia básica en los dos períodos (b y c) que abarca la curva, si bien la fase creciente es en 1973 más pronunciada. Esto último podría deberse a diferencias en las condiciones externas (temperatura, disponibilidad de alimento , etc.), lógicamente esperables al tratarse de años distintos.

Examinando ahora las variaciones del índice gonadal en un sexo y el otro por separado (Fig. 9 y 10), se observa que no existen, entre ambos, diferencias marcadas. Sin embargo, en las hembras aparentemente el final de la evacuación - y por lo tanto el comienzo de la fase b. - tendría lugar en abril; los machos, en cambio, continuarían evacuando hasta mayo. Por otra parte, los valores de los machos superan en todo momento a los de las hembras: esto es tanto más evidente cuanto mayor es el grado de desarrollo gonadal (ver Apénd. 6.3.3.).

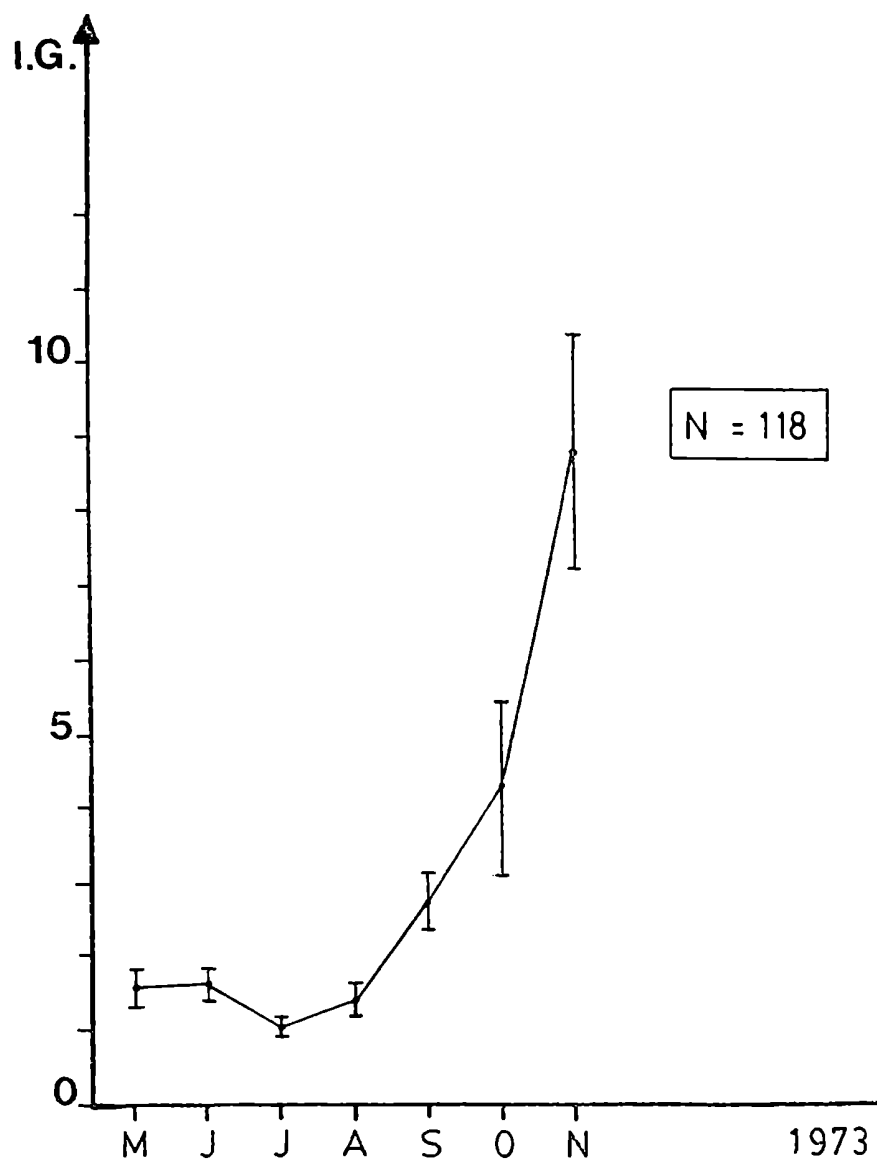


Figura 8. Índice gonadal de A. minuta durante parte del año 1973 (los segmentos verticales indican el error estándar ES).

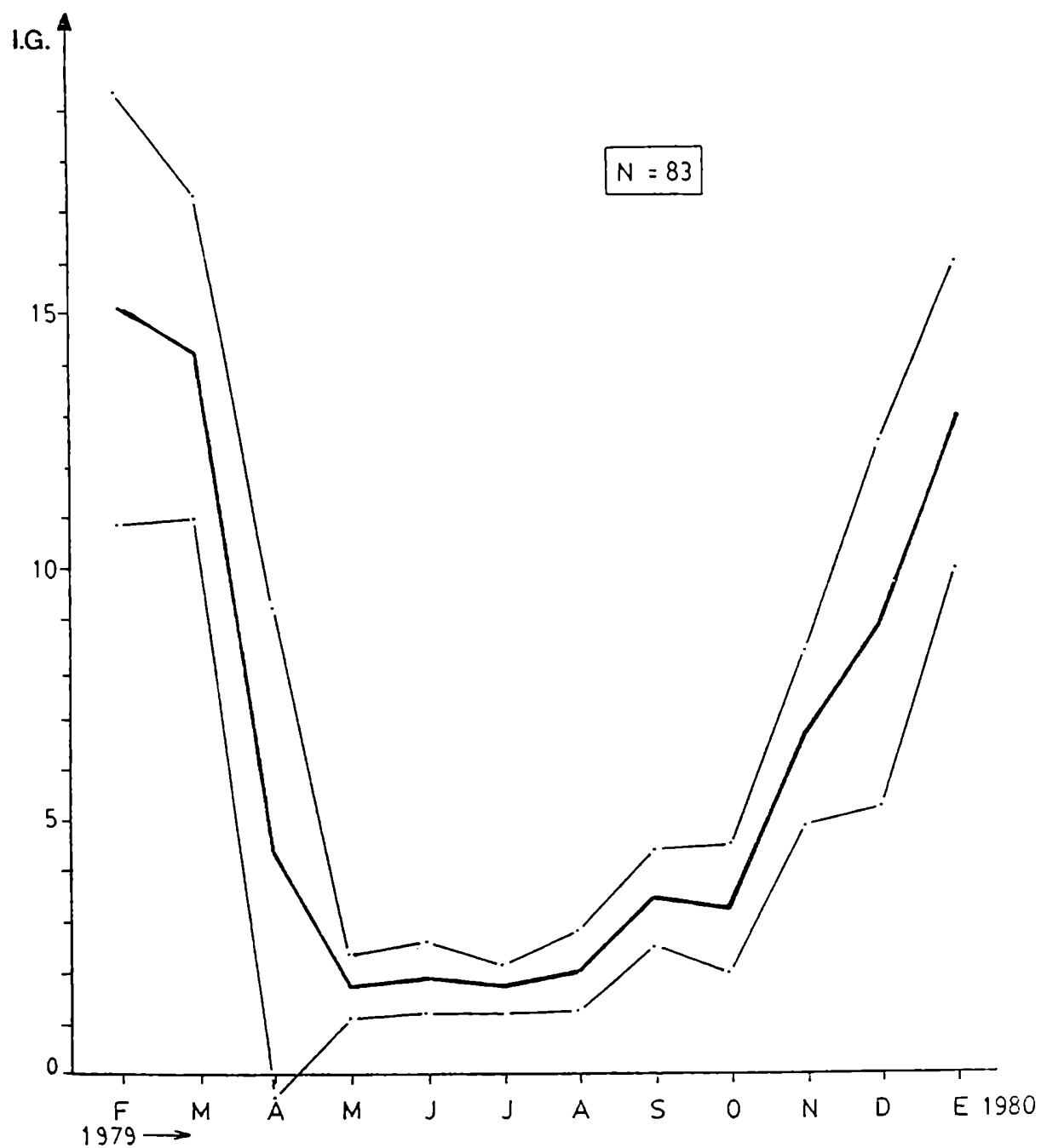


Figura 9. Índice gonadal para los machos de A. minuta (las bandas a ambos lados de los valores medios representan los límites de los intervalos de confianza del 95%).

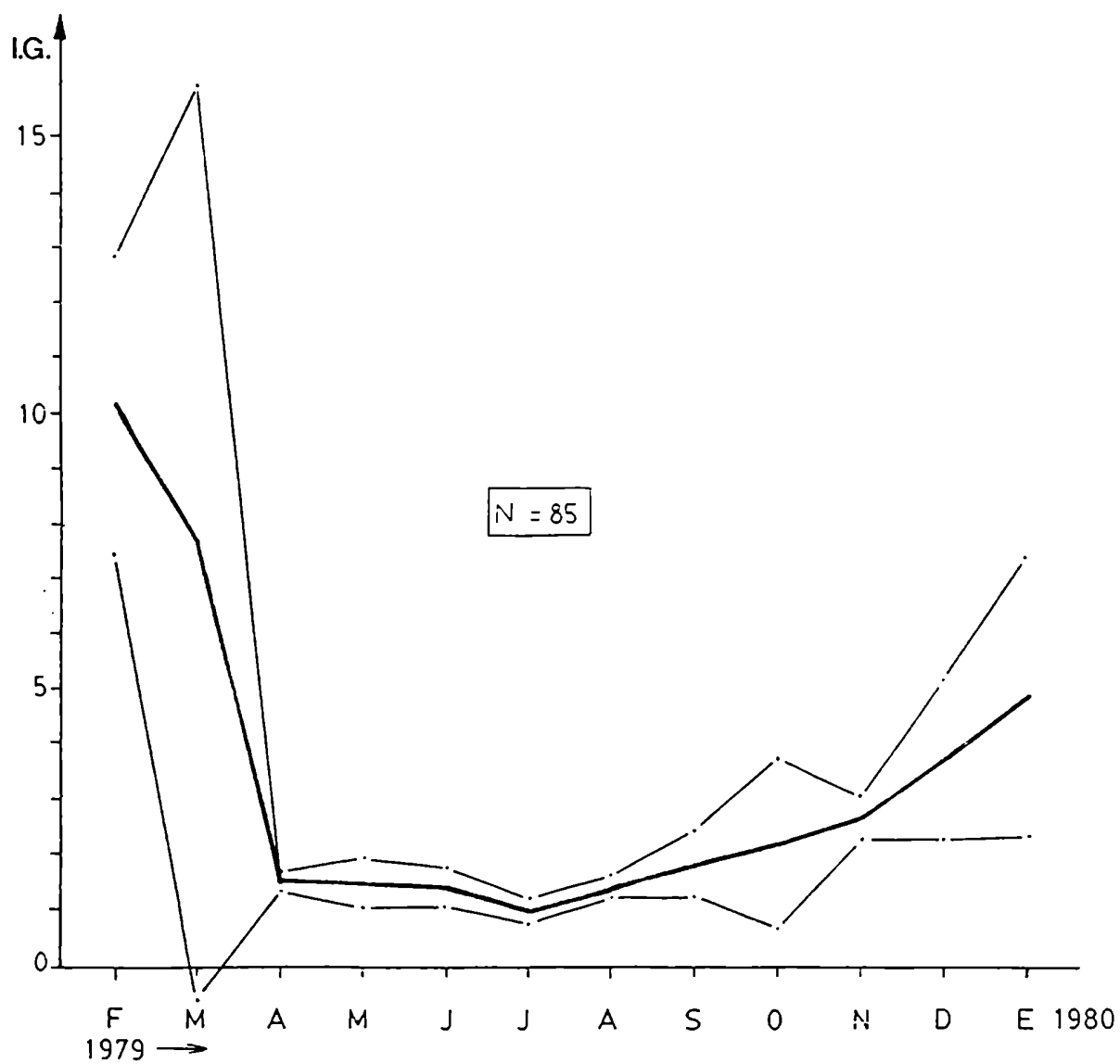


Figura 10. Índice gonadal para las hembras de A. minuta (las bandas a ambos lados de los valores medios, representan los límites de los intervalos de confianza del 95%).

3.4.2. Sucesión de los estadíos de maduración

El estudio histológico detallado de las gonadas mensualmente, permitió clasificar los distintos niveles de maduración en 7 estadíos para cada sexo. Para conocer la evolución del ciclo reproductivo a lo largo del año, se contabilizó la cantidad absoluta y relativa de individuos que, en cada mes, se encontraban en los distintos estadíos. Los resultados, para machos y hembras respectivamente, figuran en las tablas VIII y IX. Si bien el número de datos no era muy grande, se confeccionaron gráficos que aportan una idea aproximada de la marcha de los sucesos en el tiempo (Figs. 11 a 14).

a. Machos

En las Figs. 11 y 13 se observa que, en general, existe una sucesión lógica de los estadíos correlativos a lo largo del año. Sin embargo hay - a mi juicio - un solo mes con resultados un tanto inesperados: en junio reaparece el estadío 6 (con una frecuencia del 40%), pese a haber desaparecido ya el mes anterior. Esto puede deberse a uno de los siguientes motivos: o se trata de

E S T A D I O F E C H A	1979						TOTAL
	0	1	2	3	4	5	6
Febrero					11 (100)		11
Marzo		1 (10)				4 (40)	5 (50)
Abril	6 (100)						6
Mayo	7 (100)						7
Junio	13 (100)						13
Julio		2 (28,6)	5 (71,4)				7
Agosto		1 (25)	1 (25)	2 (50)			4
Septiembre		2 (40)	1 (20)	2 (40)			5
Octubre		9 (100)					9
Noviembre			4 (40)	4 (40)	2 (20)		10
1979 Diciembre		1 (12,5)	1 (12,5)	3 (37,5)	3 (37,5)		8
1980 Enero		4 (44,5)				5 (55,5)	9
N=99							

Tabla IX. Cantidad de individuos hembras en cada estadio y (%) respecto del total de cada mes.

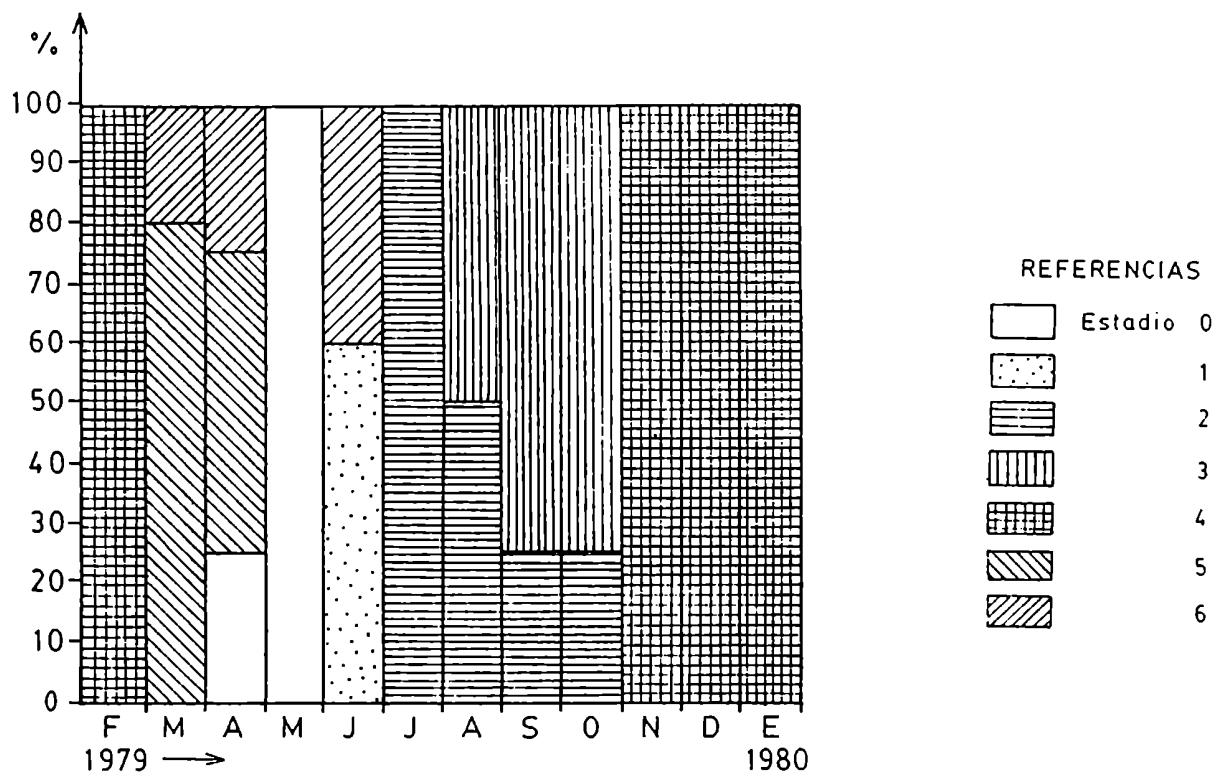


Figura 11. Porcentajes de machos en los distintos estadios de maduración, a lo largo de un año (N=57)

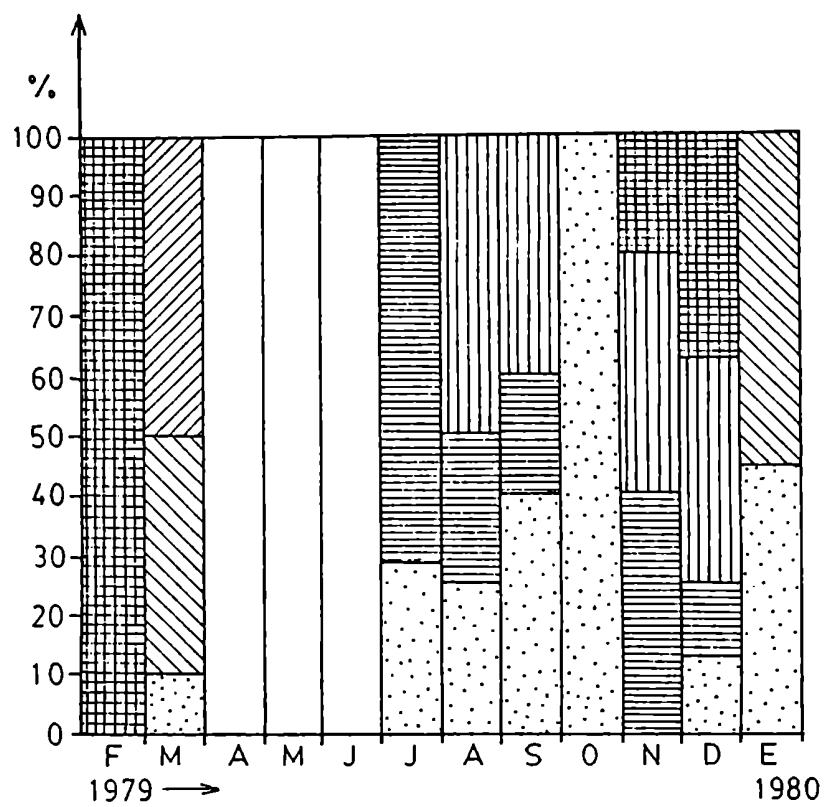


Figura 12. Porcentajes de hembras en los distintos estadios de maduración, a lo largo de un año (N=99) (ref.: ver figura 11).

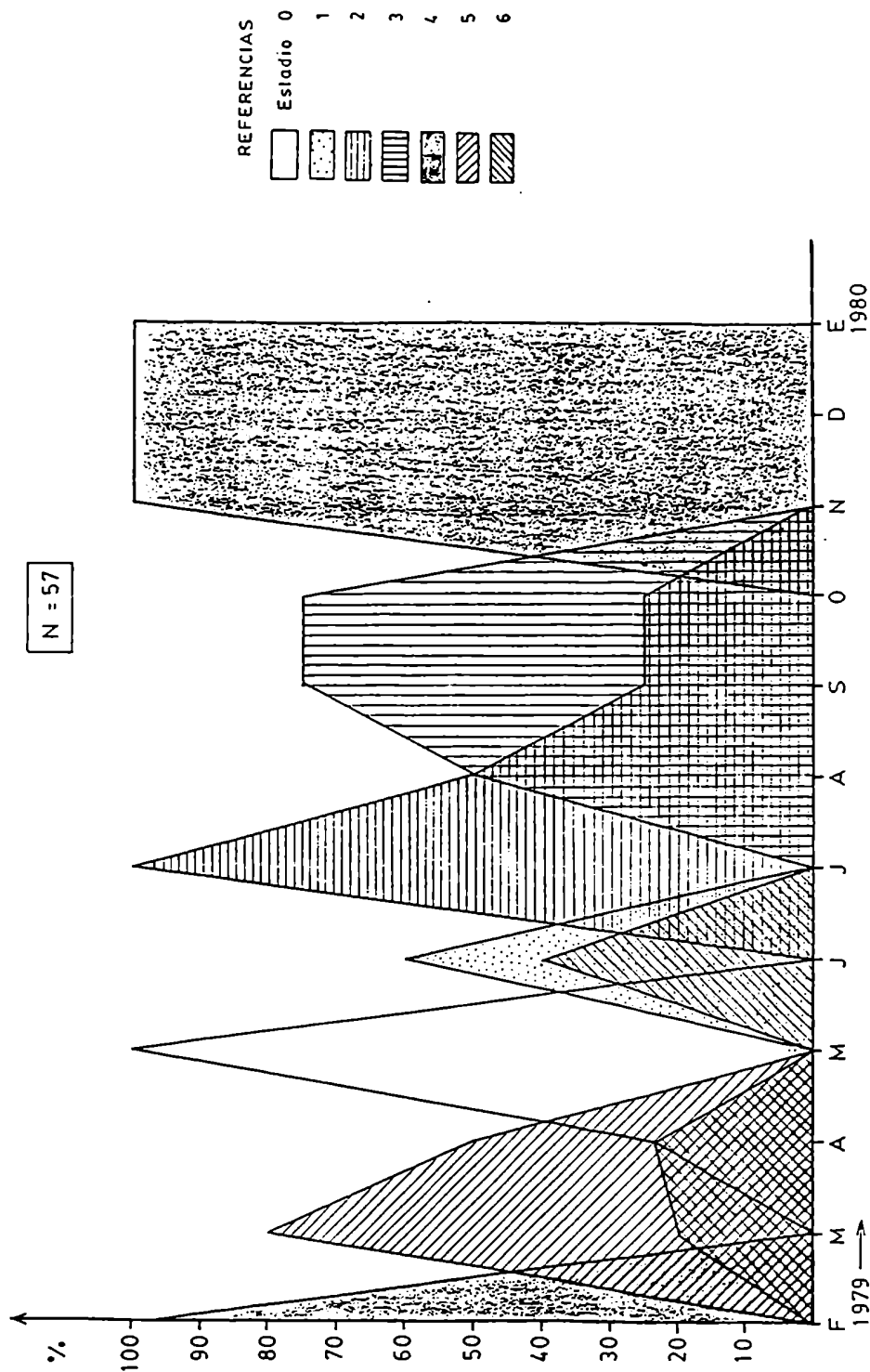


Figura 13. Porcentaje de machos en los distintos estadios de maduración, a lo largo de un año.

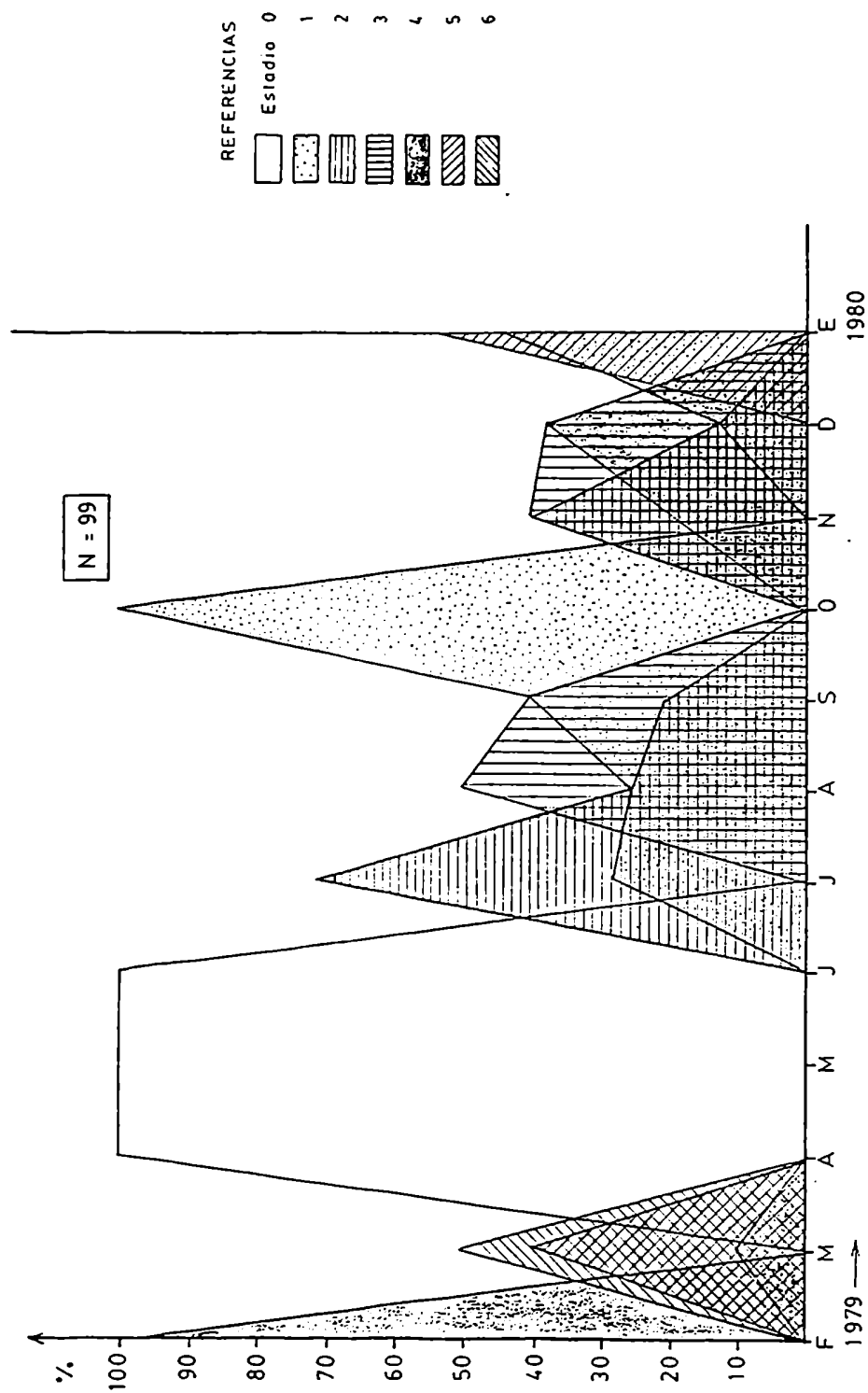


Figura 14. Porcentaje de hembras en los distintos estadios de maduración, a lo largo de un año.

un sector de la población que evacuó tardíamente, o bien simplemente hubo un error de apreciación al estudiar los cortes histológicos y esos individuos estaban, en realidad, en el estadio 0. En efecto, a veces resulta difícil distinguir entre un testículo post-evacuado y uno en reposo. En cuanto a la duración relativa de cada estadio en el transcurso del año, se ve que el estadio 4 es el más prolongado. Así, los testículos de todos los machos analizados entre noviembre y febrero se encontraban en ese estadio. Por el contrario, el estadio 1 de proliferación de las espermatogonias es el más breve: sólo ocurre en el mes de junio.

Estos resultados, sumados a los que provienen del estudio del índice gonadal, indican la existencia en los machos de Anasterias minuta de un marcado ciclo anual. Es decir que la puesta tiene lugar una vez al año durante marzo y abril (y quizás también parte de febrero y mayo). Todos los procesos de maduración de las gametas en el testículo abarcarían, aproximadamente, de 9 a 10 meses. Así, luego de la emisión de las gametas el testículo atraviesa un corto período de

reposo y ya en junio comienza la espermatogénesis. Esta irá en avance hasta la próxima puesta, el año siguiente. Es de destacar que - como se hace evidente en las Figs. 11 y 13 - los procesos de maduración son bastante sincrónicos en todos los individuos.

b. Hembras.

En las Figs. 12 y 14 se observa, en primer lugar, que en los meses de abril, mayo y junio todos los ovarios se encuentran en estadio 0 (de reposo). A partir de julio comienza la vitelogénesis y aparecen entonces los estadios 1 y sucesivos, hasta llegar a la madurez total (estadio 5), que se alcanza en enero. Sin embargo, llama la atención que en octubre no aparezcan ovarios en estadios 2 y 3 (y quizá también 4), como sería de esperar. Es muy probable que las pequeñas discordancias que aparecen, tanto en ovarios como en testículos, con los resultados teóricamente esperados, se deban al limitado número de individuos que fue analizado.

El ciclo reproductivo de las hembras de A. minuta es mucho más complejo que el de los machos. En efecto, ellas poseen un ciclo bianual,

o sea que si bien la evacuación ocurre todos los años en otoño, las gametas femeninas necesitan de un período de casi 2 años para madurar por completo. A lo largo de todo ese tiempo, la sucesión de etapas por las que atravesaría el oocito sería la siguiente.

Entre julio y marzo tiene lugar en el ovario la producción de oogonias y a partir de ellas, también de oocitos jóvenes. Durante todos estos meses éstos crecen muy lentamente; algunos de ellos - los más avanzados - pueden sufrir, hacia el final de este período, una iniciación de la vitelogénesis (o sea que serían ya oocitos I).

En marzo tiene lugar la evacuación en las hembras (y quizá también durante parte de febrero y abril). Entonces son liberados los oocitos maduros de la generación anterior, excepto aquellos que no habían madurado totalmente, que serán fagocitados o bien sufrirán autólisis. En realidad, el primero de dichos mecanismos de destrucción, es posible observarlo en el ovario ya a partir del estadio 3, es decir bastante tiempo antes de la puesta. Inmediatamente después de ella, el ovario se encuentra en estadio 6; los únicos oocitos que

se observan adosados al epitelio germinativo son los jóvenes y I, es decir, los de la nueva generación.

Durante abril, mayo y junio, los ovarios de todos los individuos se encuentran en el estadio 0, es decir que predominan los procesos de lisis. Sería explicable aquí que tales procesos afectaran a todos aquellos oocitos que no pudieron completar su maduración, o aún a los que - habiéndola completado - no fueron oportunamente evacuados. Es decir que los oocitos afectados serían los del tipo I al V. Sin embargo, llama la atención la aparición de oocitos jóvenes, también en aparente estado de destrucción. No cabe duda de que éstos deben de alguna manera resistir a tal proceso, ya que si ello no fuera así, en julio no aparecerían en el ovario oocitos vitelogénicos (I y II). (Quizás, lo que ocurre es que los oocitos jóvenes sufren, durante esos 3 meses, sólo una lisis parcial, de la que más tarde se recuperan.

A partir de julio y hasta octubre la vitelogénesis avanza (se llega así hasta el oocito III), pero los ovarios no aumentan mucho de tamaño (ver Fig. 10).

En este punto es necesario destacar que la incubación de la cría en Anasterias minuta se extiende aparentemente desde marzo hasta septiembre, y a veces octubre (es decir, durante otoño e invierno). En efecto, durante toda esa época es posible ver en la naturaleza ejemplares hembra con la cría en la cámara oral, adheridos a la superficie inferior de las rocas. Es decir que, durante un máximo de 6 a 7 meses, la hembra estaría incapacitada para alimentarse.

Es interesante destacar que durante todo este período el I.G. se halla en su valor mínimo al principio, y creciendo muy lentamente al final. Es probable que ello sea consecuencia, precisamente, del ayuno a que se ven forzadas las hembras. Recién a partir de noviembre la tasa de crecimiento de los ovarios se hace mayor; ello coincide con la aparición del estadio 4. Como se indicó anteriormente al comentar la tabla III, el pasaje de oocito III a IV lleva aparejado un enorme aumento del volumen citoplasmático. Si se piensa que este pasaje ocurre en un breve espacio de tiempo, se comprende el porqué del brusco incremento del I.G..

Desde noviembre hasta febrero los oocitos continúan madurando a un ritmo bastante rápido mientras los ovarios - pasando por el estadio 4 - llegan al 5 (madurez total).

En marzo finalmente, los oocitos cuyo desarrollo se ha venido siguiendo hasta aquí, se hallan totalmente maduros y listos para ser evacuados (son oocitos V). Los ovarios, entonces - que están en el estadio 5 - presentan en sus paredes los oocitos de la nueva generación, es decir aquellos que van a comenzar su segundo año de desarrollo.

O sea que, recapitulando, el desarrollo total de un oocito a partir de la oogonia requeriría alrededor de 20 a 21 meses.

Por último, observando nuevamente las Figs. 12 y 14 y comparando con lo que ocurre en los machos, se ve que en las hembras existe una mayor asincronía en la maduración de sus gonadas. Es probable que el desfase obedezca a que entre julio y marzo se están produciendo oogonias constantemente. Por ese motivo, aparentemente no todos los oocitos inician su desarrollo simultáneamente. Sin embargo, es llamativo que en diciembre

y enero (y aún en marzo) aparezcan todavía ovarios en estadio 1. En efecto, sus oocitos ya no tendrán tiempo de madurar para ser evacuados en marzo, en la próxima puesta. Se descarta la posibilidad de que tales gonadas pertenecieran a individuos jóvenes que recién estaban madurando por primera vez, pues - como ya se dijo - los ejemplares de pequeño tamaño no fueron considerados al realizar el muestreo (muchos de los individuos de menor tamaño que fueron admitidos eran hembras con cría). Esta es una más, entonces, de las tantas incógnitas aún no resueltas en el ciclo de esta especie.

3.5. INDIVIDUOS HERMAFRODITAS

A lo largo de las repetidas disecciones, fueron hallados dos ejemplares cuyas gonadas eran macroscópicamente testículos normales; sin embargo al realizar los cortes histológicos se descubrió en ellos - además del tejido germinativo propio del macho - un cierto número de oocitos. Ambos corresponderían a lo que Delavault (1960) llamó "machos hermafroditas".

En un caso se trataba de un ejemplar de junio cuyos testículos se encontraban en el estadio 6 (foto N° 33); en el otro, de un individuo

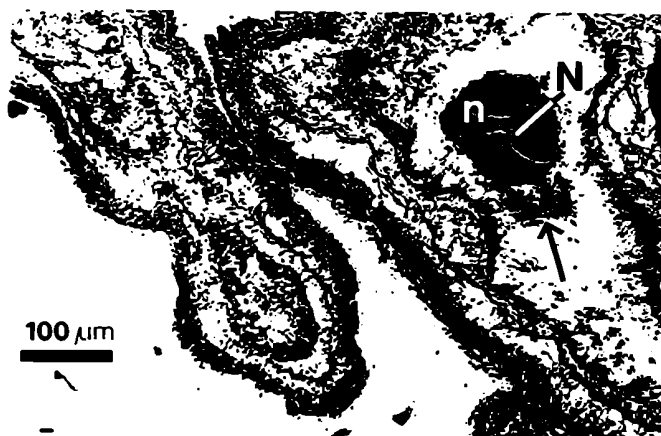


Foto N° 33. Macho hermafrodita de junio de 1979. Testículo en Estadío 6. La flecha señala un manchón de tejido fagocitario y es-perma residual.

de septiembre con testículos en estadio 3 (foto N°34). En cada uno de ellos, al detectarse el primer oocito en el lumen, se procedió a realizar cortes seriados de todo el órgano, así como del resto de gonadas de ese individuo. Los resultados de las observaciones microscópicas figuran en la tabla X.

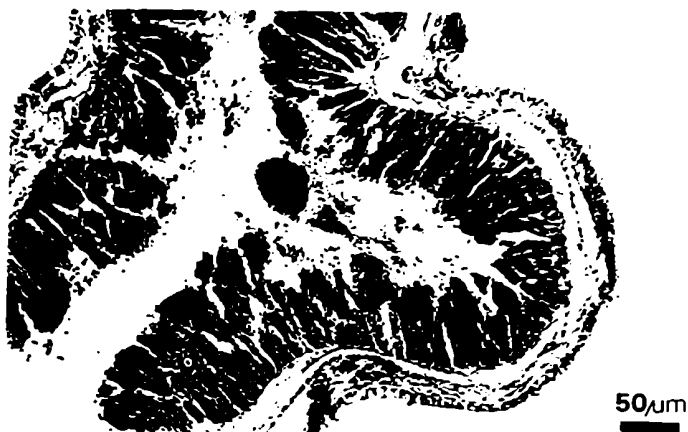


Foto N° 34. Macho hermafrodita de septiembre de 1979. Testículo en Estadío 3; en el oocito se observa núcleo y nucleolo.

GONADA N°	INDIV. JUNIO	INDIV. SEPTIEMBRE
1	5	5
2	3	1
3	?	2
4	1	2
5	-	3
6	3	2
7	1	7
8	?	4
9	?	-
10	?	-
Total	13	26

Tabla X: Cantidad de oocitos en los testículos de los individuos hermafroditas (Los números de gonada son arbitrarios; los signos de interrogación indican los casos en que no fue posible hacer el estudio histológico).

En cuanto al tipo de oocitos, en todos los casos se trataba de oocitos jóvenes; los valores obtenidos de sus dimensiones así lo corroboran:

- diámetro medio de los oocitos del individuo de junio: 87,3 μ m.

- diámetro medio de los oocitos del individuo de septiembre: 58,9 μ m.

Por último, con respecto a la posición dentro del órgano, la mayoría de las veces los oocitos se encontraban libres en el lumen. Sin embargo, seis de ellos se hallaban apoyados sobre el epitelio germinativo.

3.6. PARASITOS

Sobre un total de 344 ejemplares de A. minuta disecados, en sólo cinco fueron encontrados parásitos en la cavidad celómica (tasa de infestación: 1,5%). Se trataba de especímenes del género Dendrogaster Knipovitsch (CRUSTACEA: ASCOTHORACIDA), que conformaban una especie nueva: D. argentinensis Grygier y Salvat (Grygier y Salvat, 1984).

Hasta el momento eran conocidas 23 especies de este género, todas las cuales son endoparásitas de estrellas de mar. De ellas, sólo cuatro estaban registradas para el hemisferio Sur: D. arborescens, en Cabo de Buena Esperanza (Le Roi, 1905), D. tasmaniensis, en Tasmania (Hickman, 1959), D. antarcticus, en Mc.Murdo Sound (Grygier,

1981) y D. sp. (aún no estudiada), en las Georgias del Sur (Fisher, 1940, según Grygier, com. pers.). Por lo tanto, D. argentinensis sería la 5^a especie citada para el hemisferio meridional. Al mismo tiempo, es éste el primer hallazgo de Dendrogaster en las costas de América del Sur, el 3° en el Océano Atlántico.

Como se puede observar en la tabla XI, los especímenes encontrados incluyen dos hembras juveniles (foto N° 35) y tres hembras maduras (fo-

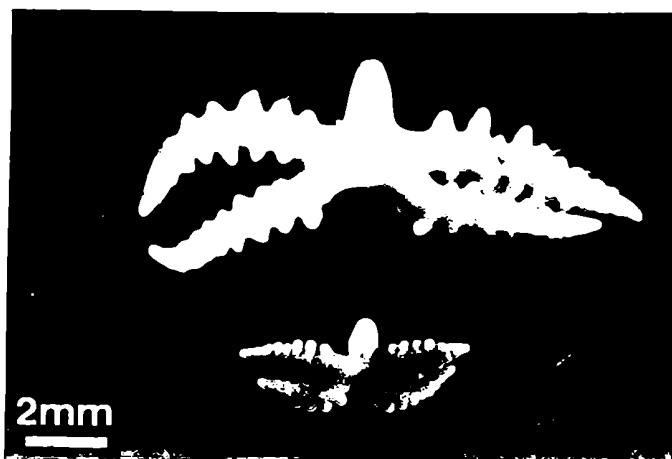


Foto N° 35. Dendrogaster argentinensis, parásito de A. minuta: hembras juveniles.

ESPECIMEN N°	FECHA RECOLECCION	SEXO	ESTADO CRECIMIENTO	PRESENCIA DE MACHOS EN SU INTERIOR	SEXO DEL HOSPEDADOR	LOCALIZACION DEL PARASITO DENTRO DEL HOSPEDADOR
1	6/6/73	♀	madura	Si	?	Ocupando completamente el interior de uno de los brazos; los correspondientes ciegos pilóricos totalmente atrofiados.
2	15/10/73	♀	madura	Si	♂	?
3	7/5/73	♀	madura	?	♀	en el disco
4	23/5/79	♀	juvenil	No	♂	en la base de un brazo, cubriendo la región proximal de ese par de ciegos pilóricos.
5	19/12/79	♀	juvenil	No	♀	?

Tabla XI. Datos sobre los especímenes de parásitos (*Dendrogaster argentinensis* Grygier y Salvat, 1984), hallados en la cavidad celómica de *A. minuta*.

tos N° 36 y 37), todos ellos obtenidos de diferen-



Foto N° 36. D. argentinensis: hembra madura llena de huevos (algunos de ellos fueron extraídos y se observan en la fotografía).

tes hospedadores: ninguna estrella de mar poseía más de un parásito. A su vez, en el interior del cuerpo de dos de dichas hembras maduras, se hallaron machos (foto N°37), entre la masa de innumerables huevos llenos de vitelo. Es de recordar que en este grupo los machos son enanos, vermiformes y viven a su vez como parásitos dentro del cuerpo de la hembra de su especie.

En cuanto al sexo de los hospedadores en los respectivos casos, se trataba de dos machos, dos hembras y un individuo en el que no se observaron gonadas.

De la ubicación que presentaba el parásito dentro del cuerpo de su huésped, sólo se tienen datos para tres de los casos. En uno de ellos, la hembra juvenil de D. argentinensis se alojaba en la base de un brazo de la estrella de mar. Las ramificaciones del cuerpo de aquélla se entrelazaban con las de los ciegos pilóricos del huésped a ese nivel. En cambio cuando el parásito era una hembra madura (y por lo tanto de gran volumen), en un caso ocupaba totalmente la zona del disco de la estrella y en otro caso llenaba por completo la cavidad de un brazo, en el que los respecti-

vos ciegos pilóricos se habían atrofiado casi totalmente.



Foto N° 37. D. argentinensis: porción del cuerpo de una hembra madura cargada de huevos (algunos de ellos en la fotografía). La flecha señala parte del cuerpo de un macho que sobresale a través de una ruptura en la pared.

4. DISCUSION Y CONCLUSIONES

4.1. ESTUDIOS HISTOLOGICOS

El estudio de los tejidos somáticos de la pared gonadal de A. minuta confirma el plan básico establecido para otras especies de la misma familia, como Asterias vulgaris (Walker, 1974), o incluso de otro Orden, como Ctenodiscus crispatus e Hippasteria phrygiana (Walker, 1979), del Orden Phanerozonia.

O sea que, tal como postula dicho autor, los caracteres histológicos gruesos de las gonadas serían comunes para todos los asteroideos.

Sin embargo, sería de sumo interés realizar estudios más exhaustivos (a nivel de microscopía electrónica) de cada una de las capas de la pared gonadal de A. minuta.

En cuanto a los tejidos germinales, en cambio, suelen existir diferencias estructurales y funcionales más o menos importantes entre las distintas especies. Sin embargo, en los machos las diferencias de estructura son generalmente pequeñas. La uniformidad interespecífica en la histología de los testículos fue comprobada ya por Cognetti y Delavault (1962), luego de examinar 14 especies de asteroideos.

Kim (1968) y Jangoux-Vloebergh (1973) entre otros, describieron distintos estadios de maduración para los testículos.

En A. minuta fueron definidos 7 estadios de maduración. Se comprobó que la espermatogénesis es cíclica y - al igual que lo que ocurre en Leptasterias pusilla (Smith, 1971) y en general en la mayoría de las especies - la población de gametas se renueva totalmente de año a año. Es decir, durante la evacuación se elimina toda o casi toda la masa de espermatozoides, y los pocos que puedan quedar serán probablemente reabsorbidos por los tejidos fagocitarios. En efecto, a partir de un corto tiempo después de la puesta, ya no se verán espermatozoides en el testículo hasta que no madure la nueva generación.

Por otra parte tanto Pearse (1965) en Odontaster validus como Worley et al. (1977) en Leptasterias tenera, observaron espermatogonias en el testículo durante todo el año (aunque el primero de ellos notó que éstas eran más abundantes en una época determinada). En el caso de A. minuta, sólo se han visto espermatogonias cuando ellas abundan notablemente, en la etapa proliferativa

(estadio 1). Sin embargo, es obvio que deben existir, aunque en menor cantidad, durante todo el año, para poder originar la enorme masa de espermatozoides que llena el testículo en la madurez.

En cuanto al tejido fagocitario en los machos, como ya se dijo - y a diferencia de lo que ocurre en las hembras - las células que lo componen no poseen características muy definidas. Sin duda, algo semejante debe ocurrir con Leptasterias pusilla donde, según Smith (1971), las células fagocitarias en los testículos son "grandes y variables células ameboides". Por otra parte, Delavault (1960) observó que en Echinaster sepositus "la estructura del tejido fagocitario del testículo es sensiblemente diferente de la de su homólogo del ovario". Como ya se vio, en A. minuta se da la misma situación.

El análisis de los ovarios a lo largo de un período de un año reveló que en A. minuta la oogénesis - a diferencia de la espermatogénesis - debe requerir alrededor de 2 años. Durante este largo tiempo ocurren en los oocitos primarios numerosos cambios; éstos coinciden, básicamente, con los que tienen lugar en los oocitos de Leptasterias te-

nera (Worley et al., 1977). Es decir: durante el primer año de desarrollo, el oocito sufre, fundamentalmente, cambios en el núcleo (enorme aumento de volumen, que conduce a la formación de una vesícula germinativa de nucleolo grande, multivacuulado) y un gran crecimiento citoplasmático; durante el segundo año se suceden todas las etapas de la vitelogénesis hasta la madurez total del oocito.

Existen diversas maneras de clasificar a los oocitos primarios según el grado de desarrollo. Así, tanto Chia (1964) para L. hexactis, como Smith (1971) para L. pusilla y Worley et al. (1977) para L. tenera, distinguieron - cada uno de ellos - tres distintas categorías de oocitos (aunque éstas no coincidían entre los distintos autores).

En A. minuta el tamaño y forma de la célula, del núcleo y del nucleolo, así como las sucesivas etapas de la vitelogénesis, llevaron a la clasificación de los oocitos primarios en seis tipos diferentes (oocito joven y oocitos I a V). De acuerdo, entonces, a la apariencia general del ovario (y en particular a la cantidad relativa de los distintos tipos de oocitos), quedaron determinados

siete distintos estadios de maduración (estadios 0 a 6).

El ciclo reproductivo de Asterias rubens ha sido tratado por diversos autores. En esta especie europea la situación es más simple, dado que la hembra posee un ciclo anual. Kowalski (1955), por ejemplo, distinguió - según el diámetro medio de los oocitos presentes - 5 estadios en el desarrollo de los ovarios. Jangoux y Vloerbergh (1973), utilizando un criterio semejante, distinguieron en total 7 estadios diferentes. Por otra parte Schoenmakers (1979) estableció 4 distintos estadios, a cada uno de los cuales dividió a su vez en 2 subestadios. Este autor se basó en el análisis estadístico de las dimensiones de los oocitos.

En cuanto a la producción de oogonias, Worley et al. (1977) observaron que en L. tenera ella tenía lugar durante todo el año. En A. minuta, en cambio, el proceso ocurre durante un período de 9 meses.

Como en la mayoría de las especies (salvo Odontaster validus, según Pearse, 1965), aparecen en los ovarios de A. minuta cantidades

variables de tejido fagocitario: "tejido vesiculoso". Ya en el siglo pasado fueron descritas en equinodermos unas células de enormes vacuolas, cuya función fagocitaria sólo fue comprobada varios años después. Sin embargo en asteroideos el tejido vesiculoso es citado por primera vez en un trabajo de Bacci (1945), para Asterina gibbosa. Luego se describe también para Echinaster sepositus (Delavault y Cognetti, 1958), Coscinasterias tenuispina (Cognetti y Delavault, 1958) y para numerosas especies de todos los órdenes (Cognetti y Delavault, 1962). Posteriormente aparecieron otros trabajos, pero fueron Bruslé et al. (1970) los que realizaron un exhaustivo estudio del tejido vesiculoso mediante microscopía electrónica. Tal tejido fagocitario parece ser característico de las hembras de asteroideos (o de los individuos en fase ovogenética, en especies hermafroditas). En L. pusilla, Smith (1971) observó gran número de células "folículoares" que, habiendo atravesado tanto la membrana vitelina como la plasmática, se encontraban en el citoplasma de oocitos del segundo año de desarrollo, participando activamente de su destrucción. Del mismo modo en A. minuta aparecen con relativa frecuencia oocitos

del segundo año parcial o totalmente invadidos de células vesiculosas. Aparentemente, dichas células atravesarían de algún modo la capa de células foliculares que envuelve al oocito. Se dispondrían entonces, entre ella y la membrana vitelina, en varias capas superpuestas entre sí. La invasión hacia el interior del oocito continuaría cuando las células atraviesan la membrana vitelina y luego también la plasmática. Poco a poco tendría lugar entonces la fagocitosis activa de las sustancias nutritivas del oocito, hasta que por último todo el volumen de la célula queda ocupado por tejido vesiculoso. En determinado momento se produciría un punto de ruptura en la capa de células foliculares, y por allí saldrían al lumen del ovario los restos del oocito fagocitado envueltos en la membrana vitelina, la que -muy engrosada- se pliega de modo irregular (foto N°23). Finalmente, queda tan sólo una especie de "cicatriz", de aspecto curiosamente similar al de los folículos atrésicos con su membrana vítrea, del ovario de mamíferos. Estructuras de este tipo pueden encontrarse aisladas en el lumen o bien rodeadas de tejido fagocitario (foto N°28).

Como ya se dijo, además de, a tra-

vés de este mecanismo de activa fagocitosis, la destrucción de los oocitos en A. minuta puede ocurrir por autólisis (especialmente durante los estadios 6 y 0). Ambos procesos también ocurren en L. pusilla (Smith, 1971). Es muy probable que, tal como postula dicho autor, los materiales que integraban el citoplasma del oocito fagocitado o autolisado, sean luego transferidos por las células vesiculosas a los oocitos jóvenes en crecimiento. O sea que existiría en el ovario un reciclamiento de nutrientes entre oocitos.

Este mecanismo de sobreproducción y subsecuente destrucción de los oocitos fue sugerido ya por Cognetti y Delavault (1962) para un grupo de Asterínidos y Echinastéridos. Estos autores sostienen que el tejido fagocitario vesiculoso de los ovarios podría jugar - indirectamente - un rol en la nutrición de los oocitos en desarrollo. En efecto, los productos de degradación que se liberan durante la fagocitosis, serían luego asimilados por otros oocitos.

Por su parte, Pearse (1965) si bien no pudo observar este tejido en Odontaster validus, sugiere que muchos de los oocitos actuarían como

células de almacenaje, acumulando nutrientes para su posterior utilización por otros oocitos en rápido crecimiento.

Con respecto a las células "gigantes" que fueron observadas en los tejidos somáticos de algunos ovarios y testículos, no existe hasta el momento en la bibliografía de asteroideos ninguna cita de células semejantes en sus gonadas. Se desconoce, por ello, totalmente su origen y función. Quizás sean un tipo especial de celomocitos, o bien las precursoras de alguno de ellos. En efecto, en ocasiones parece que estas células se fraccionaran originándose, a partir de una de ellas, varias células hijas pequeñas; el núcleo de cada una de éstas tiene un tamaño aproximado al de los respectivos lóbulos del núcleo de la célula gigante original. Sin embargo, si el proceso fuera normal, éste debería observarse en las gonadas con una frecuencia mayor de la que en la práctica presenta (a menos de que fuera éste un fenómeno de tan corta duración que la probabilidad de aparición en los cortes fuera sumamente baja). De todos modos, todo esto no deja de ser una mera hipótesis, ya que nada ha sido fehacientemente comprobado.

4.2. FECUNDIDAD

En cuanto a los estudios de fecundidad, los resultados indicaron que aparentemente el número de oocitos que se liberarían en cada estación estaría - en cifras redondas - entre 100 y 880, con un promedio de 270 (ver valores de F_x en tabla VI). Por otro lado, el número de embriones en la cámara incubadora, en las distintas etapas de su desarrollo, oscilaba entre 38 y 226 (tabla VII).

Evidentemente, todos estos valores son bajos, si se compara con el enorme número de oocitos liberados en cada puesta, en especies con larvas planctotróficas. En efecto, según Smith (1971), una sólo hembra de Luidia ciliaris es capaz de evacuar más de 600 millones de huevos en una sola estación (Mortensen, 1913) o una de Asterias rubens más de 2,5 millones (Gemmell, 1914).

En las especies vitelotróficas en cambio (como se dijo en el ítem 1.3), la situación es muy diferente. Así, Chia (1964) contó de la cámara incubatriz en Leptasterias hexactis, entre 52 y 1.600 embriones en distinto grado de desarrollo. Smith (1971) registró entre 200 y 250 para L. ae-

qualis y tan sólo 40 a 60 para L. pusilla. Evidentemente, los valores obtenidos para A. minuta entran dentro de lo esperado para especies de su categoría.

4.3. CICLO REPRODUCTIVO; EPOCA DE PUESTA

Para estudiar el ciclo reproductivo de A. minuta, se utilizaron dos métodos que se complementan entre sí: el índice gonadal anual y el análisis histológico mensual de las gonadas. Este último permite evaluar el grado de madurez del individuo en cada instante, a través de las características de los tejidos gonadales. Es decir, según el espesor de la pared, cantidad y calidad de células germinales, tejidos accesorios, y demás, se determina el estadio del órgano. Así por ejemplo, en A. minuta los factores que fueron tomados en cuenta al considerar las células germinales del ovario fueron fundamentalmente: forma y dimensiones de los oocitos, grado de basofilia y vitelogénesis.

Comparando finalmente la sucesión de estadios a lo largo del año con la evolución - paralela - del índice gonadal, fue posible delinear el ciclo reproductivo de la especie. Así,

se vio que existe una marcada época de puesta anual.

Coincidiendo con el criterio de Schoenmakers (1979), considero "época de puesta" ("spawning period"), al período durante el cual aparecen en la naturaleza individuos maduros y postevacuados simultáneamente (es decir, estadios 5 y 6 en A. minuta).

Existe en ambos sexos un único pico bien marcado de caída del I.G. en el año. Así, en los machos la evacuación tiene lugar durante marzo y abril (y quizás también parte de febrero y mayo). Para las hembras, el lapso es aún más breve y corresponde al mes de marzo (y quizás a parte de febrero y abril).

Es decir que la época de puesta es en A. minuta a fin del verano y comienzo del otoño. Esta situación es excepcional en los asteroideos, ya que en la mayoría de las especies la evacuación se produce en primavera (Boolootian, 1966). Sólo en pocos casos, como Leptasterias littoralis (O'Brien, 1977), Marthasterias glacialis (Mortensen, 1927) y Echinaster sepositus (Löhner, 1913; Nachtsheim, 1914) (éstas dos últimas según

Boolootian, 1966), la eliminación de las gametas ocurre en verano y/u otoño.

Es muy probable que uno de los factores que desencadenan el fenómeno de la evacuación en A. minuta, sea la disminución de la temperatura del agua por debajo de ciertos valores. En L. littoralis por ejemplo, O'Brien (op.cit.) sugiere - tras haber realizado ciertos experimentos en laboratorio - que éste es, en efecto (al menos en parte) un factor responsable.

El hecho de que la época de puesta tenga lugar a fines del verano y comienzo del otoño, sería quizás una adaptación para que las estrellas juveniles sean liberadas en primavera, cuando las condiciones de temperatura y disponibilidad de alimento son óptimas. Además, tal como observa O'Brien (op.cit.) "las condiciones en la zona intermareal son muy rudas durante los meses de invierno, y por ello es razonable esperar que los juveniles estén protegidos hasta el retorno de las condiciones más favorables en la primavera".

En cuanto a la duración del ciclo reproductivo, en A. minuta - al igual que en otras

especies - ello depende del sexo de que se trate. Así, en los machos existe un ciclo anual bien definido; en las hembras en cambio, las gametas tardan aproximadamente 2 años en madurar por completo. Al final de este largo periodo, sólo unos pocos oocitos de gran tamaño (1,3 mm), llenos de vitelo, completaron su maduración y serán evacuados (el resto sufre una reabsorción). Tal condición es típica de las especies que poseen desarrollo directo. En efecto, como se dijo en el ítem 1.3., es preciso acumular gran cantidad de nutrientes en el huevo para que éste pueda autoabastecerse durante el periodo de incubación, hasta que comience su vida libre como estrella juvenil, y pueda alimentarse por sí misma. Una situación análoga se da en otras especies de la familia Asteriidae: Leptasterias hexactis (Chia, 1964), L.pusilla (Smith, 1971), L.tenera (Worley et al., 1977), además de algunos miembros de otros órdenes, como Odontaster validus (Pearse, 1965), del Orden Phanerozonia.

En cuanto a la fecundación en Anasterias minuta, si bien no ha podido ser observada directamente, se supone que podría ocurrir en la cámara oral de la hembra, al ponerse en contacto los oocitos evacuados con el esperma circundante.

Como se dijo en el ítem 1.1., no existen hasta el momento otros trabajos sobre la reproducción en ésta ni en otras especies argentinas de asteroideos o de equinodermos en general. Se desconocen así temas como la longevidad de A. minuta, la edad en la que madura sexualmente, y muchos otros. Sobre la longevidad en otras especies, Smith (1971) nombra varios ejemplos. Entre ellos: Asterias rubens, que fue mantenida como mínimo 6 años en laboratorio (Bull, 1934), A. amurensis, que parece vivir al menos 4 años (Hatana-ka y Kosaka, 1959), y el caso extremo, que sería Pisaster ochraceus, en que algunos individuos podrían tener - en la costa del Pacífico de Estados Unidos - más de 20 años de edad (Mac Ginitie y Mac Ginitie, 1968). En este último caso, sin embargo, no se dan - Según Smith - los fundamentos de tal aseveración.

En cuanto a la madurez sexual, se sabe por ejemplo que en especies del género Asterias (del Hemisferio Norte), los individuos alcanzan ésta después del primer año de vida (Nauen, 1978). Asterias forbesi, en particular, podría estar sexualmente madura ya a los 3 meses de edad (Mead, 1900, según Smith, 1971).

Para A. minuta, lo único que se puede inferir respecto a este tema es que la madurez sexual no puede tener lugar antes de alcanzar, los machos, un año de vida, y las hembras, dos (ver ítem 3.4.2). Tampoco es posible hasta el momento decir cuántos años viven los individuos, más allá de esa edad.

4.4. HERMAFRODITISMO

A pesar de que en los asteroideos el gonocorismo suele ser la regla, existen - como es sabido - especies consideradas hermafroditas. El ejemplo típico es Asterina gibbosa, y también A. pancerii, A. batheri, Asterias forbesi y Fromia ghardaana (Delavault, 1966).

Sin embargo, entre ambos extremos se sitúan casos intermedios, o sea especies normalmente gonocóricas, donde ocasionalmente aparecen ejemplares hermafroditas. A mi entender, éstas deben ser consideradas especies con gonocorismo lábil, sea cual fuere la frecuencia de aparición de los hermafroditas en la población normalmente gonocórica. No obstante, hay que admitir que dicha labilidad puede ser mayor o menor, según la especie

de que se trate. En el primer caso, está Echinaster sepositus, donde la frecuencia de hermafroditas es 5% o 4% (Cognetti y Delavault, 1960 y Delavault, 1960, respectivamente). Algo semejante ocurre con Marthasterias glacialis, donde la frecuencia es 9% (Delavault y Cognetti, 1961).

En cambio existen otras especies donde los autores sólo citan excepcionales hallazgos de hermafroditas. Tales son los casos de Asterias rubens (Retzius, 1911), A. groenlandica (Lieberkind, 1921), Certonardoa semiregularis (Hayashi, 1968 y luego Komatsu y Oguro, 1972) y Odontaster validus (Pearse, 1965). Si bien en todos estos casos se cita la aparición de un sólo ejemplar hermafrodita, no siempre se aclara el total de individuos que fue analizado, por lo que no es posible calcular el porcentaje de incidencia. Sin embargo, sabemos que de C. semiregularis, Komatsu y Oguro habían revisado 900 ejemplares (frecuencia de hermafroditas: 0,1%) y de O. validus, Pearse había disecado 350 especímenes (frecuencia: 0,3%).

En el presente trabajo se encontraron 2 ejemplares de A. minuta hermafroditas,

del total de 240 individuos estudiados histológicamente. La frecuencia de hermafroditismo sería entonces de 0,8%, por lo que esta especie estaría incluida en el último grupo. O sea, el gonocorismo es bastante estable, y sólo presenta una pequeña labilidad, nunca comparable a la de E. sepositus o M. glacialis. Sin embargo, dado que en los animales con la anomalía, no todas las gonadas se encontraban afectadas, no hay seguridad de que algún otro individuo del total analizado no haya tenido quizás algún oocito en alguno de sus testículos (o hasta el caso inverso: esperma en ovarios).

4.5. PARASITOS

Cinco individuos de A. minuta se hallaban parasitados por Dendrogaster argentinensis (Crustacea, Ascothoracida). Dado que el número de casos es tan pequeño, no es mucho lo que se puede concluir sobre los efectos que la presencia del parásito puede provocar a su huésped. Sin embargo, se supone que las gonadas se desarrollan normalmente en el individuo parasitado. En efecto, en los 4 individuos en que se pudo identificar el

sexo, testículos y ovarios presentaban apariencia normal. El examen histológico revelaba en cada caso un desarrollo típico para el estadio correspondiente. A su vez, dicho estadio coincidía con el de la mayoría de los ejemplares de la muestra respectiva, o sea que aparentemente no existía retraso en el ciclo.

El único caso dudoso fue aquel en el que no se observó gonada alguna. Si bien tal cosa puede interpretarse como una atrofia producida por el parásito, no se descarta la posibilidad de un error de observación. En efecto, las gonadas pueden haber estado presentes, pero haber sido muy inmaduras, y por lo tanto de tamaño ínfimo. El mismo espécimen presentaba los ciegos pilóricos atrofiados en el brazo donde se alojaba el parásito; tal atrofia podría ser resultante de la escasez de espacio disponible.

4.6. CONCLUSIONES FINALES

- Anasterias minuta es una especie incubadora que habita las aguas subantárticas de la costa Sur argentina.

- Existen, en cada individuo, típi-

camente cinco pares de gonadas. En los machos, los testículos - siempre blanquecinos y con aspecto de racimo - desembocan en los gonoporos ventrales a través de cortos gonoductos. Las hembras poseen ovarios de forma globosa, que en la madurez adquieren un intenso color naranja; gonoductos y gonoporos son iguales que en el macho.

- La estructura histológica de los tejidos somáticos de la pared gonadal, corresponde al plan general observado en otros asteroideos. Existe un saco externo y otro interno, separados entre sí por el seno celómico genital. Se describen sus respectivas capas, a nivel de microscopía óptica.

- Estudiando las variaciones periódicas en la estructura histológica de testículos y ovarios a lo largo del año se determinaron en machos y en hembras, siete estadios de desarrollo (estadios 0 a 6).

- En general, la estructura histológica del testículo no difiere mayormente de la indicada para otros asteroideos. Asimismo, el ciclo reproductivo es típicamente anual. Las hembras, en cambio, responden a un ciclo bianual, al igual

que algunas especies bien conocidas del hemisferio Norte: Leptasterias hexactis, L. pusilla y L. tenera, entre otras.

- Según los resultados de los análisis periódicos del índice gonadal, existe en A. minuta una única y bien definida época de puesta en el año. Ella corresponde al final del verano y comienzo del otoño del hemisferio Sur: básicamente entre marzo y abril, con algunas variantes entre machos y hembras.

- Los machos evacúan, entonces, todo o casi todo el contenido de espermatozoides de sus testículos; los pocos que quedan, serán fagocitados por el tejido fagocitario correspondiente.

- El desarrollo total de un oocito, a partir de la oogonia, requiere aproximadamente 20 a 21 meses.

- Básicamente, durante el primer año de desarrollo ocurren diversas modificaciones en el núcleo del oocito. Un corto período después de la evacuación (en la que se eliminan aquellos oocitos maduros de la generación anterior), se iniciará la vitelogénesis. Mientras este proceso avanza en el transcurso del año, la célula aumen-

ta enormemente de tamaño. Finalmente, en la próxima puesta, el oocito ya está maduro y listo para ser evacuado.

- Durante la larga etapa de la vitellogenesis, se forman en el oocito dos tipos de plaquetas vitelinas: basófilas y acidófilas; éstas últimas con una zona central y otra periférica, ambas de características tintoriales diferentes.

- El tejido fagocitario de los ovarios de A. minuta es el típico "tejido vesiculoso" descrito en hembras de otras especies. En ocasiones se encuentran oocitos cuyo citoplasma ha sido parcial o totalmente invadido por este tejido. Como resultado final del proceso de fagocitosis, quedan en el ovario unas "cicatrices" muy características.

- En un 3,3% de los individuos analizados histológicamente, apareció un tipo de "células gigantes" entre los tejidos de la pared gonadal. No existe hasta el momento, en la literatura de asteroideos, referencia alguna a células semejantes.

- Dado que A. minuta posee desarrollo directo, los oocitos maduros alcanzan enorme

tamaño. Así, el oocito listo para evacuar tiene un diámetro de alrededor de 1,3 mm.

- La incubación de la cría tiene lugar durante el otoño y el invierno, y duraría como máximo entre 6 y 7 meses.

- Los estudios de fecundidad indican que cada hembra eliminaría en la época de puesta, alrededor de 300 oocitos en promedio. Sin embargo, debido a la mortandad en las distintas etapas, los recuentos de la cámara incubadora arrojan cifras menores: alrededor de 180 huevos y tan sólo 90 "pequeñas estrellas".

- Fueron encontrados dos individuos con características de machos hermafroditas. La frecuencia de esta anomalía es sólo del 0,8 %.

- En cinco ejemplares de A. minuta fueron hallados parásitos en la cavidad celómica (tasa de infestación: 1,5 %). Se trataba de miembros del grupo de crustáceos: Ascothoracida, que conformaban una especie nueva : Dendrogaster argen-

tinensis Grygier y Salvat. Este es el primer hallazgo de una especie de este género - y en general de un miembro del grupo Ascothoracida - en las costas de América del Sur.

Chuidianus

Ascothoracida de la Sección de Zedler.

Mariano J. Salvo

5. BIBLIOGRAFIA

- BACCI, G. (1949): Ricerche su Asterina gibbosa (Penn.)
II. L'hermaphroditismo in una popolazione di Plymouth. Arch.Zool.Ital.
34:49-73
- BENNET, J. and A.C. GIESE (1955): The annual reproductive and nutritional cycles in two western sea urchins. Biol.Bull. (Woods Hole) 109:226-237
- BERNASCONI, I. (1964 a): Asteroideos argentinos. Claves para los Ordenes, Familias, Subfamilias y Géneros. Physis (B. Aires) 24 (68): 241-277
- BERNASCONI, I. (1964 b): Distribución geográfica de los equinoideos y asteroideos de la extremidad austral de Sudamérica. Bol.Inst. Biol.Mar. 7:43-50
- BERNASCONI, I. (1966): Los equinoideos y asteroideos colectados por el buque oceanográfico R/V "Vema", frente a las costas argentinas, uruguayas y sur de Chile. Rev.Mus.Arg. Cs.Nat., Zool. 9(7):147-175

BOOLOOTIAN, R.A. (1966): Reproductive Physiology. Pp.
561-613 in: R.A. Boolootian, Ed.,
Physiology of Echinodermata. John
Wiley and Sons, New York

BRUSLE, J. et R. DELAVault (1968): Recherches sur la
cytodifférenciation des gamètes chez
un hermaphrodite fonctionnel: Asterina
gibbosa. Ultrastructure des
ovogonies et des ovocytes en pré-
méiose. C.R.Acad.Sc.Paris, 266:21-23

BRUSLE, J., G. TEREYGEOL et R. DELAVault (1970): Le tissu
vésiculeux dans les gonades d'Asterina
gibbosa P.. Données histochimiques et
ultrastructurales. Analyse quantitati-
ve et signification fonctionnelle. Boll.
Zool. 37:37-49

BUCHNER, P. (1911): Uber hermaphrodite Seesterne. Zool.Anz.
38:315-319

BULL, H.O. (1934): Aquarium observations on the rate of
growth and enemies of the common starfish,
Asterias rubens. Rep.Dove Mar.Lab., Ser.3,2:
60-65

COGNETTI, G. e R. DELAVault (1958): Aspetti istologici delle gonadi in Coscinasterias tenuispina LMK. Monit. Zool. Ital. 66:44-48

COGNETTI, G. and R. DELAVault (1960): Recherches sur la sexualité d'Echinaster sepositus (Echinoderme, Astéride). Étude des glandes génitales chez les animaux des côtes de Livourne. Cah. Biol. Mar. 1:421-432

COGNETTI, G. et R. DELAVault (1962): La sexualité des Astérides. Cah. Biol. Mar. 3:157-182

CUENOT, L. (1887): Contributions à l'étude anatomique des Astérides. Arch. Zool. Exp. Gén. Notes Rev. ser. 2, 5 bis Suppl.: 1-144

CHIA, F.S. (1964): The development and reproductive biology of a brooding starfish, Leptasterias hexactis (Stimpson). Doct. Diss., University of Washington, 180 pp.

- CHIA, F.S. (1966): Brooding behavior of a six -
rayed starfish Leptasterias
hexactis. Biol.Bull.(Woods Hole)
130 (3): 304-315
- CHIA, F.S. (1968): Some observations on the develop-
ment and cyclic changes of the
oocytes in a brooding starfish,
Leptasterias hexactis. J.Zool.
(London) 154 (4):453-461
- CHIA, F.S. (1970): Some observations on the histology
of the ovary and RNA synthesis in
the ovarian tissues of starfish,
Henricia sanguinolenta. J.Zool.
London 162:287-291
- CHRISTIANSEN, H.E. (1977): Obtención de láminas histo-
lógicas como variante al método por
congelación. Physis (B. Aires) C,
36 (92):347-348
- CHRISTIANSEN, H.E., M.E. CABRERA y S.R. BRODSKY (1972):
Posibilidades de aplicación de una
técnica estereométrica en la determi-

nación de la fecundidad y en los cálculos de los procesos de reabsorción ovocitaria en invertebrados marinos. An.Soc.Cient.Arg. 194: 279-298

CHRISTIANSEN, H.E., S.R. BRODSKY y M.E. CABRERA
(1973 a): Aplicación de una técnica histométrica en la determinación de la fecundidad en invertebrados marinos. Physis (B. Aires) A 32(84): 121-135

CHRISTIANSEN, H.E., S.R. BRODSKY y M.E. CABRERA (1973 b):
La microscopía aplicada con criterio poblacional en el estudio de las gonadas de los vertebrados e invertebrados marinos. Physis (B. Aires) A 32(85): 467-480

CHRISTIANSEN, H.E. y G. WEISS (1974): Nuevo método para la determinación de la fecundidad en peces con técnicas estereométricas mediante cortes por congelación. Su comparación puntual con otros métodos.
Physis (B.Aires) A 33(87): 453-458

- DAN, J.C. (1954): Studies on the acrosome. II. Acrosome reaction in starfish spermatozoa. Biol.Bull.107: 203-218
- DARTNALL, A.J. (1969): A viviparous species of Patriella (Asteroidea, Asterinidae) from Tasmania. Proc.Linn.Soc.N.S.Wales, 93(3): 293-296
- DELAVAUULT, R. (1960): La sexualité chez Echinaster sepositus Gray du Golfe de Naples. Pubbl.Stn.Zool.Napoli 32:41-57
- DELAVAUULT, R. (1966): Determinism of sex. Pp. 615-638 in: R.A. Boolootian Ed., Physiology of Echinodermata. John Wiley and Sons, New York
- DELAVAUULT, R. et G. COGNETTI (1958): L'apparition de granules jaunes dans les gonades d'Echinaster sepositus Gray de la Méditerranée. C.R. Acad.Sc.Paris, 246:984-986
- DELAVAUULT, R. et G. COGNETTI (1961): L'hermaphrodisme chez Marthasterias glacialis L.

C.R. Acad.Sc. Paris 253: 2771-2772

DELAVALT, R. et J. BRUSLE (1968): Recherches sur
la cytodifférenciation des gamètes
chez un hermaphrodite fonctionnel:
Asterina gibbosa. Ultrastructure
des cellules de la lignée sperma-
togénétique et comparaison sperma-
togonies-ovogonies. C.R. Acad.Sc.
Paris 266:710-712

FARMANFARMAIAN, A., A.C. GIESE, R.A. BOOLOOTIAN and
J. BENNETT(1958): Annual reproduc-
tive cycles in four species of west
coast starfishes. J.Exp.Zool. 138:
355-367

FEDER, H.M. (1956): Natural history studies on the
starfish Pisaster ochraceus in the
Monterey Bay area. Doct.Diss., Stan-
ford University, Stanford, California,
294 pp.

FELL, H.B. and D.L. PAWSON (1966): General Biology of
Echinoderms. Pp. 1-48 in: R.A.

Booolootian Ed., Physiology of
Echinodermata. John Wiley and
Sons, New York

FISHER, W.K. (1930): Asteroidea of the North Pacific
and adjacent waters, Pt.3. Forci-
pulata, concluded. Bull.U.S. Nation
Mus. 76, part 3, U.S. Government
Printing Office, Washington D.C.

FISHER, W.K. (1940): Asteroidea. Discovery Rep., 20

FUJI, A. (1960): Studies on the biology of the sea
urchin. III. Reproductive cycle
of two sea urchins, Strongylocen-
trotus nudus and S. intermedius
in Southern Hokkaido. Bull.Fac.
Fish.Hokkaido Univ., 11:49-57

GEMMILL, J.F. (1914): The development and certain
points in the adult structure
of the starfish, Asterias rubens
(L.) Philos.Trans.B., 205: 217-294

- GIESE, A.C., R. BOOLOOTIAN, A. FARMANFARMAIAN, L. GREENFIELD and J. BENNETT (1957): Reproductive cycles in some west coast echinoderms. Anat. Rec., 123: 554-555
- GRYGIER, M.J. (1981): A representative of the genus Dendrogaster (Cirripedia: Ascothoracica) parasitic in an Antarctic starfish. Biol. Antarct. Seas X, Antarct. Res. Ser. 32 (1): 1-15
- GRYGIER, M.J. and M.B. SALVAT (1984): Dendrogaster argentinensis, new species, a South American sea-star parasite (CRUSTACEA: ASCOTHORACIDA). Proc. Biol. Soc. Wash. 97 (1): 43-48
- HAGIWARA, Y., J.C. DAN and A. SAITO (1967): Studies on the acrosome. VIII. The intact starfish acrosome. J. Ultrastruct. Res. 18: 551-561
- HANCOCK, D.A. (1955): The feeding behavior of starfish on essex oyster beds. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 34: 313-331

- HATANAKA, M. and M. KOSAKA (1959): Biological studies on
the population of the starfish,
Asterias amurensis in Sendai Bay.
Tohoku J. Agric. Res. 4: 159-178
- HAYASHI, R. (1968): On a hermaphroditic specimen of
the sea-star Certtonardoa semire-
gularis (Müller et Troschel). Annu.
Rep. Noto Mar. Lab. 8: 15-18
- HERNANDEZ, D.A. y A. TABLADO: Asteroidea de Puerto
Deseado (Santa Cruz, Argentina)
(inérito)
- HICKMAN, J.L. (1959): Dendrogaster tasmaniensis sp.
nov. (Ascothoracida) from the
sea-star Allostichaster polyplax
(Müller and Troschel). Parasito-
logy 49: 316-329
- HYMAN, L.H. (1955): The Invertebrates: Echinodermata.
Vol. 4, Mc Graw-Hill
- JANGOUX, M. and M. VLOEBERGH (1973): Contribution a
l'étude du cycle annuel de repro-
duction d'une population d'Asterias

rubens (Echinodermata, Asteroidea) du littoral belge. Neth.J. Sea Res. 6(3): 389-408

KIM, Y.S. (1968): Histological observations of the annual change in the gonad of the starfish, Asterias amurensis Lütken. Bull.Fac.Fish.Hokkaido Univ. 19(2): 97-108

KOEHLER, R. (1906): Echinodermes. Stéllérides, ophiures et échinides. Expéd.Antarctique Française (1903-1905), 6

KOMATSU, M. and C. OGURO (1972): Notes on the hermaphroditic specimen of the sea-star Certanardoa semiregularis (Müller et Troschel), Proc.Jap. Soc.Syst.Zool. 8:49-52

KOWALSKI, R. (1955): Untersuchungen zur Biologie des Seesternes Asterias rubens L. in Brackwasser. Kieler Meeresforschungen 11(2): 201-213

- KUHNEMANN, O. (1969): Vegetación marina de la ría
de Puerto Deseado. Opera Lillo-
ana 17: 1-123
- LASKER, R. and A.C. GIESE (1954): Nutrition of the
sea urchin, Strongylocentrotus
purpuratus. Biol.Bull.(Woods
Hole) 106: 328-340
- LE ROI, O. (1905): Zwei neue parasitische Cirripe-
dien aus der Gruppe der Ascotho-
racida. Zool.Anz. 29: 399-401
- LEIGHTON, D., I. NUSBAUM and S. MULFORD (1967):
Effects of waste discharge from
Point Loma saline water conversion
plant on intertidal marine life.
J. Water Pollut. Cont. Fed. 39:
1190-1202
- LIEBERKIND, I. (1921): On a starfish (Asterias grön-
landica) which hatches its young
in its stomach. Vidensk.Medd.Dan.
Naturhist.Foren. 72: 121-126

- LIEBERKIND, I. (1926): Ctenodiscus australis, a brood-protecting asteroid. Vidensk. Meddel. Dansk Naturhist. Foren 82(8): 183-196.
- LOHNER, L.R. (1913): Zur Entwicklungsgeschichte von Echinaster sepositus (Gray). Zool. Anz. 41: 181-186
- LUDWIG, H. (1903): Seesterne. Expedition Antarctic Belge, Resultats Voyage Belgica 1897-1899, Zool. 1
- MAC GINITIE, G.E. and N. MAC GINITIE (1968): Natural History of Marine Animals, 2nd. Ed., Mc Graw-Hill, New York
- MC PHERSON, B.F. (1968): Contributions to the Biology of the sea urchin Eucidaris tribuloides (Lamarck). Bull. Mar. Science 18(2): 400-443
- MEAD, A.D. (1900): On the correlation between growth and food supply in starfish. Am. Nat. 34:17-23
- MORTENSEN, T. (1913): On the development of some British echinoderms. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 10:1-18

MORTENSEN, T. (1927): Handbook of the echinoderms
of the British Isles. London,
Oxford University Press, 471 pp.

NACHTSHEIM, H. (1914): Über die Entwicklung von
Echinaster sepositus (Gray).
Zool.Anz. 44: 600-606

NAUEN, C.E. (1978): Populationsdynamik und Ökologie
des Seesterns Asterias rubens L.
in der Kieler Bucht. Doct. Diss.
Univ. Kiel, West Germany, 175 pp.

NICHOLS, D. (1967): Echinoderms. Hutchinson Univ.
Library, London: 200 pp.

NIMITZ, M.A. (1976): Histochemical changes in gonadal
nutrient reserves correlated with
nutrition in the sea star, Pisaster
ochraceus and Patiria miniata.
Biol. Bull (Woods Hole) 151: 357-369

O'BRIEN, F.X. (1977): Some adaptation of the seastar
Leptasterias littoralis (Stimpson)
to life in the intertidal zone.

Thalassia Jugosl. 12(1): 237-243

PAINE, R.T. (1966): Food-web complexity and species
diversity. Am.Nat. 100:65-75

PEARSE, J.S. (1965): Reproductive periodicities in
several contrasting populations
of Odontaster validus, a common
antarctic asteroid. In: Biol.
Antarct.Seas II, Antarct.Res.
Ser. 5: 39-85

PERRIER, E. (1875): Revision de la collection des
Stellérides du Museum d'Histoire
Naturelle de Paris. Arch.Zool.
Exp. 4: 263-450

PERRIER, E. (1891): Stellérides. Mission Scient. Cap.
Horn, Zool. 6(3)

PHILLIPPI, R. (1870): Neue Seesterne aus Chile.
Arch.Naturgesch. 36(1).

RETZIUS, G. (1911): Ein Fall von Hermaphroditismus

bei Asterias rubens L. Biol.

Untersuch. 16: 69-72

SALVAT, M.B. (1975 a): Algunos aspectos de la biología de Patiria stellifer (Moebius) (ECHINODERMATA, ASTEROIDEA) I. Desarrollo embrionario. Physis (B. Aires) A 34 (88): 49-58

SALVAT, M.B. (1975 b): Algunos aspectos de la biología de Patiria stellifer (Moebius) (ECHINODERMATA, ASTEROIDEA) II. Consideraciones ecológicas. Physis (B. Aires) A 34(89): 257-268

SARS, M. (1844): Uber die Entwicklung der Seesterne.
Arch. Naturgesch. 10(1)

SARS, M. (1846): Fauna littoralis norvegiae, Heft.1

SCHAEFER, A. (1970): Bases matemáticas de la micro-
estereología. Mikroskopion 18+19.
Wild Heerbrug: 3-13

SCHEFFE, H. (1959): The Analysis of Variance. John Wiley Inc.

SCHOENMAKERS, H.J.N. (1979): The annual reproductive cycle of the ovaries of Asterias rubens (Echinodermata). Pp. 59-114 in: Doct.Diss., University of Utrecht

SKJAEVELAND, S.H. (1973): Ecology of Echinoderms in Borgenfjorden, North-Trøndelag, Norway. Det. Kgl. Norske Videnskabers Selskab Museet, Misc. 8, Contr. N° 165 Biol.St., Trondheim, Norway: 1-51

SMITH, E.A. (1876): Asteriidae and Ophiuridae from Kerguelens Island. Ann.Mag.Natur. Hist.ser. 4, 17(98): 105-113

SMITH, E.A. (1879): Echinodermata (Zoology of Kerguelens Island). Philos. Trans. Roy.Soc. London 168, extra vol: 564-568

SMITH, J.E. (1968): Torrey Canyon. Pollution and Marine Life, A Report by the Plymouth

Laboratories of the Marine Biological Association of the United Kingdom, Cambridge University Press

SMITH, R.H. (1971): Reproductive biology of a brooding sea-star, Leptasterias pusilla (Fisher), in the Monterey Bay region. Doct.Diss., Stanford University, 214pp.

SOKAL, R. and F.J. ROHLF (1981): Biometry. W.H. Freeman and Company, San Francisco, 859 pp.

TANAKA, Y. (1958): Seasonal changes occurring in the gonad of Stichopus japonicus. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 9 (1): 29-36

TYLER, A. and B. TYLER (1966): The gametes, some procedures and properties. Pp. 639-682 in: R. A. Boolootian, Ed., Physiology of Echinodermata, John Wiley and Sons, New York

VERRILL, A.E. (1914): Monograph of the shallow-water starfishes of the North Pacific coast. Harriman Alaska Exped. 14

- WALKER, C.W. (1974): Studies on the reproductive systems of sea-stars. I. The morphology and histology of the gonad of Asterias vulgaris. Biol.Bull. (Woods Hole) 147(3): 661-677
- WALKER, C.W. (1979): Ultrastructure of the somatic portion of the gonads in asteroids, with emphasis on flagellated-collar cells and nutrient transport. J. Morphol. 162(1): 127-162
- WEIBEL, E.R. (1969): Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. Intern.Rev.Cytol. 26: 235-302
- WEIBEL, E.R. y D.M. GOMEZ (1962): A principle for counting tissue structures on random section. J. Appl.Physiol. 17:343

WORLEY, E.K., D.R. FRANZ and G. HENDLER (1977):

Seasonal patterns of gametogenesis in a North Atlantic brooding asteroid, Leptasterias tenera. Biol.Bull. (Woods Hole) 153: 237-253

6. A P E N D I C E

6.1. ALGUNOS DETALLES DE LA GAMETOGENESIS EN FOTOGRAFIAS EN COLOR

6.1.1. Espermatogénesis



Foto N°38. Espermatogonias en un testículo en Estadío 1; en el seno hemal se observan amebocitos (Escala = 5 μ m).

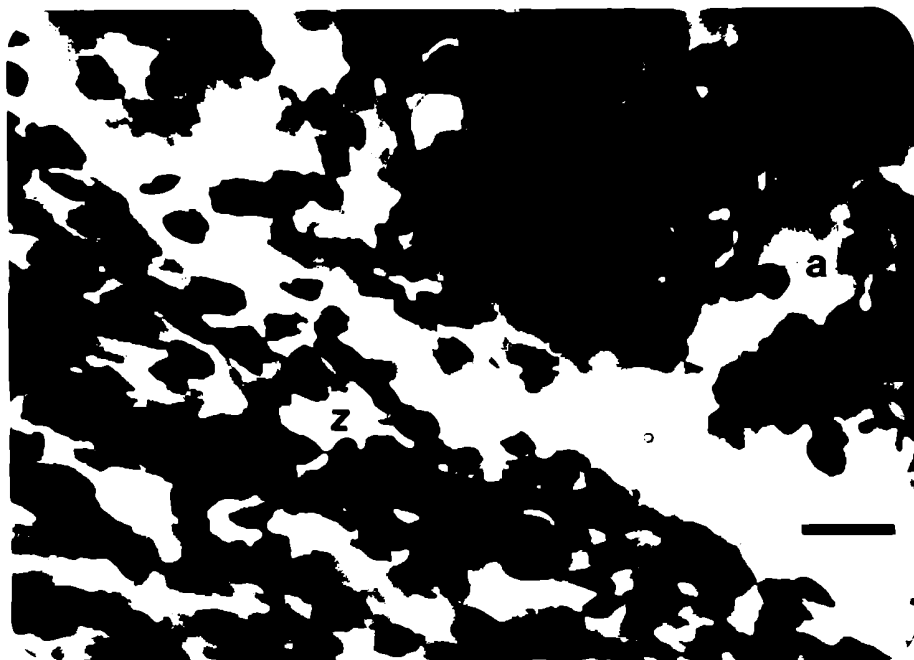


Foto N°39. Testículo en Estadío 4: detalle de la zona límite entre las espermatidas que se desprenden de las "colonnettes" y la masa central de espermatozoides (Escala = 5 μ m).

6.1.2. Oogénesis



Foto N°40. Oocito joven adosado a la pared del ovario. Obsérvense los cromosomas en un estadio tardío de la profase I, probablemente diplo-tene. Las vacuolas periféricas indicarían el comienzo del Estadío 0 del ovario (Escala = 20 μ m).

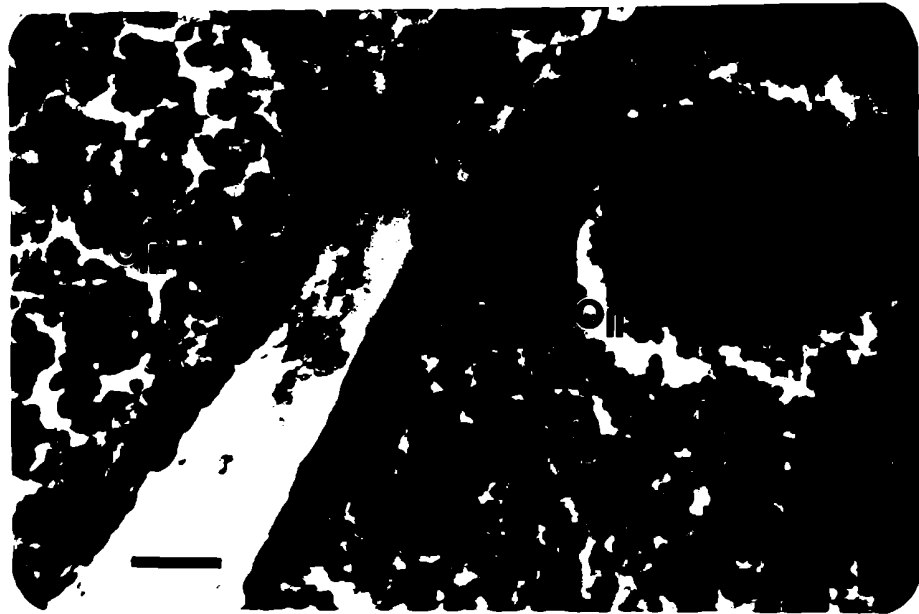


Foto N°41. Detalle de dos oocitos de un ovario en Estadío 3. Obsérvense las plaquetas vitelinas características de cada uno, la disposición de las células foliculares y las vacuolas del nucleolo (Escala = 20 μ m).

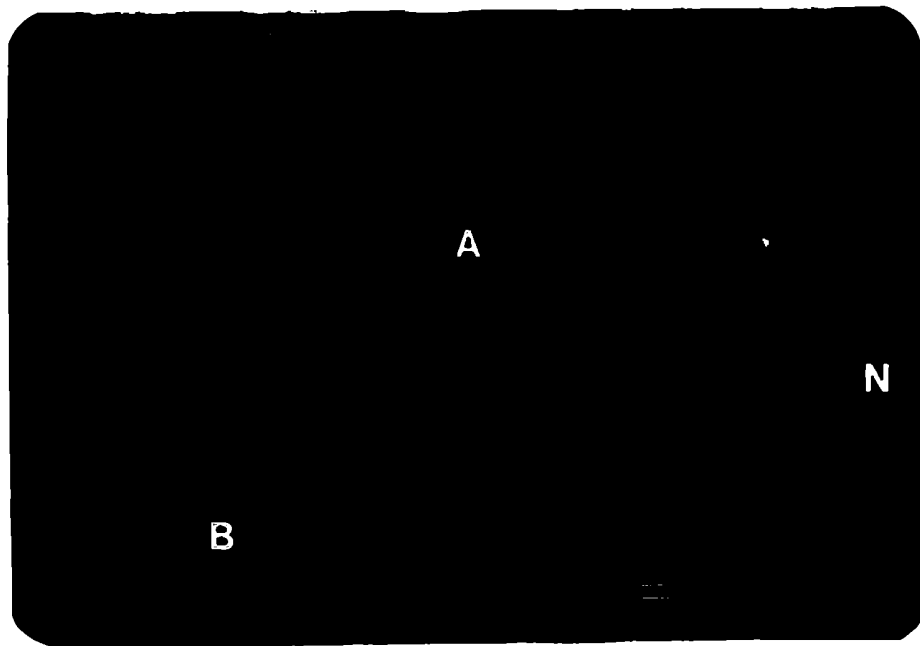


Foto N°42. Detalle de un oocito III. Obsérvense los dos tipos de plaquetas vitelinas (las acidófilas con sus dos zonas), y el borde irregular de la vesícula germinativa (Escala = 10 μ m).

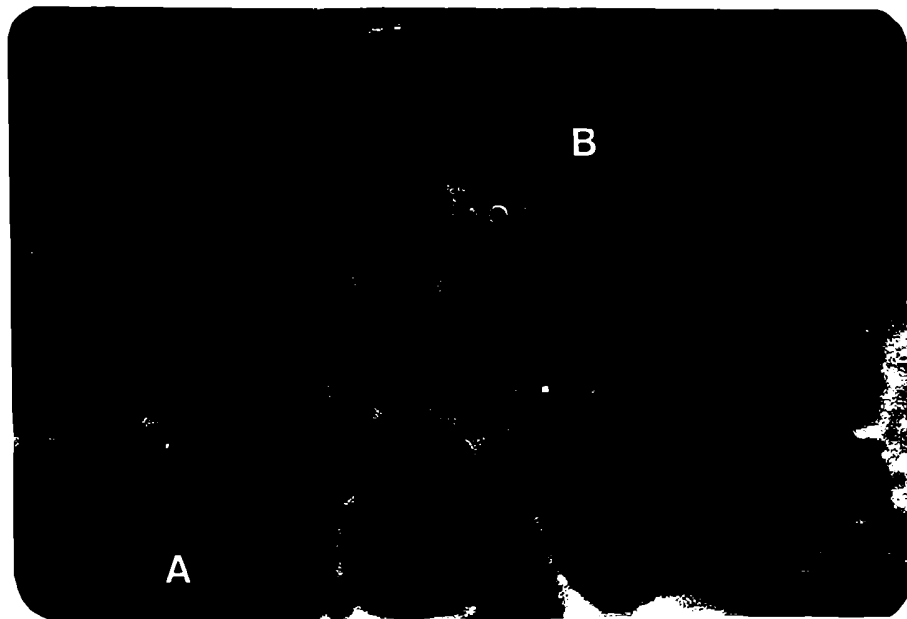


Foto N°43. Detalle de plaquetas vitelinas en el oocito III; nótese la diferente textura de unas y otras (Escala = 5 μ m).

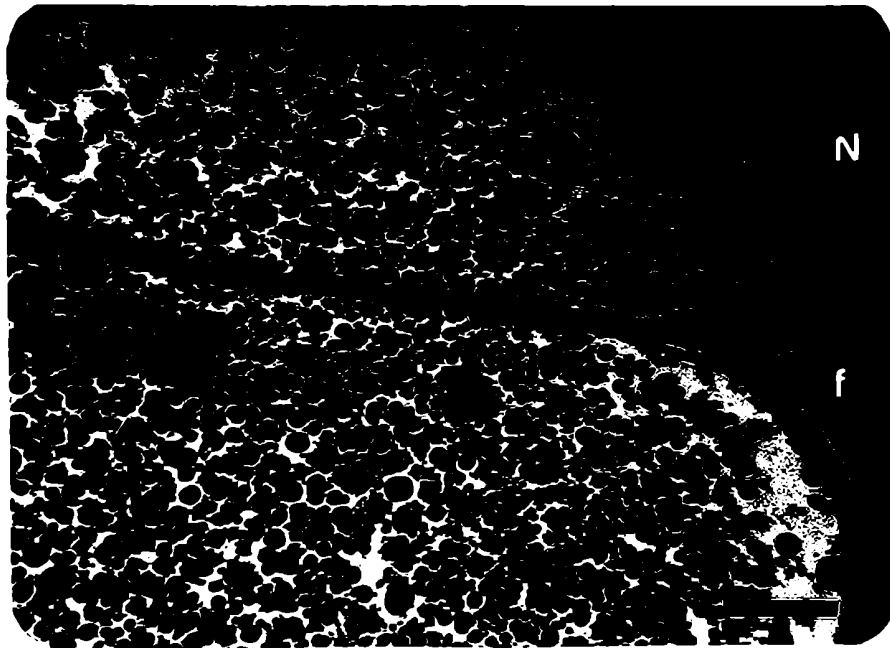


Foto N°44. Detalle de dos oocitos IV. Las flechas señalan la ubicación preponderante de las plaquetas vitelinas basófilas, en la periferia de la célula (Escala = 100 μ m).

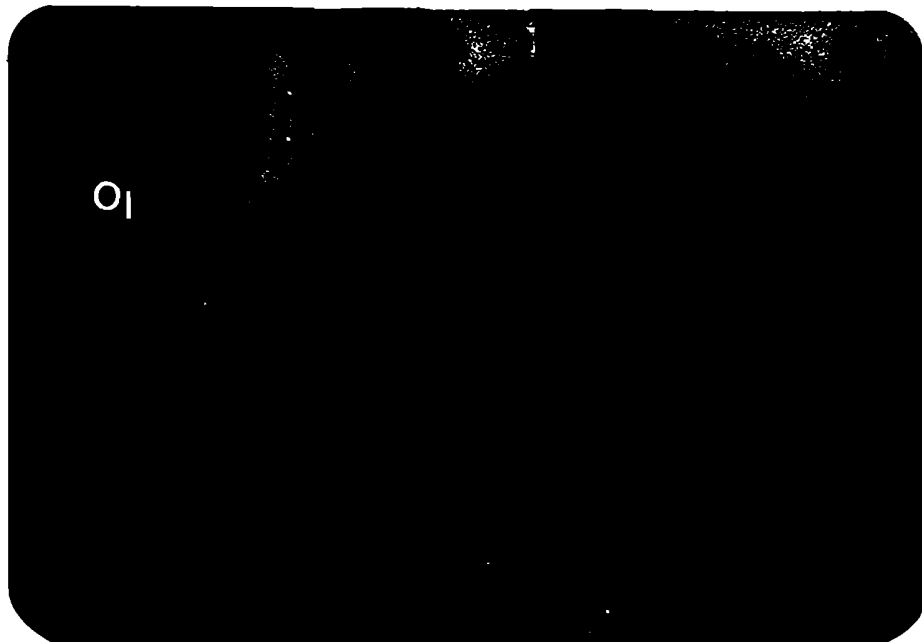


Foto N°45. Tejido vesiculoso en un ovario en Estadío 5; obsérvense las células foliculares del oocito I. A la derecha y arriba: parte de un oocito maduro con algunas de sus enormes plaquetas vitelina; acidófilas (Escala = 20 μ m).

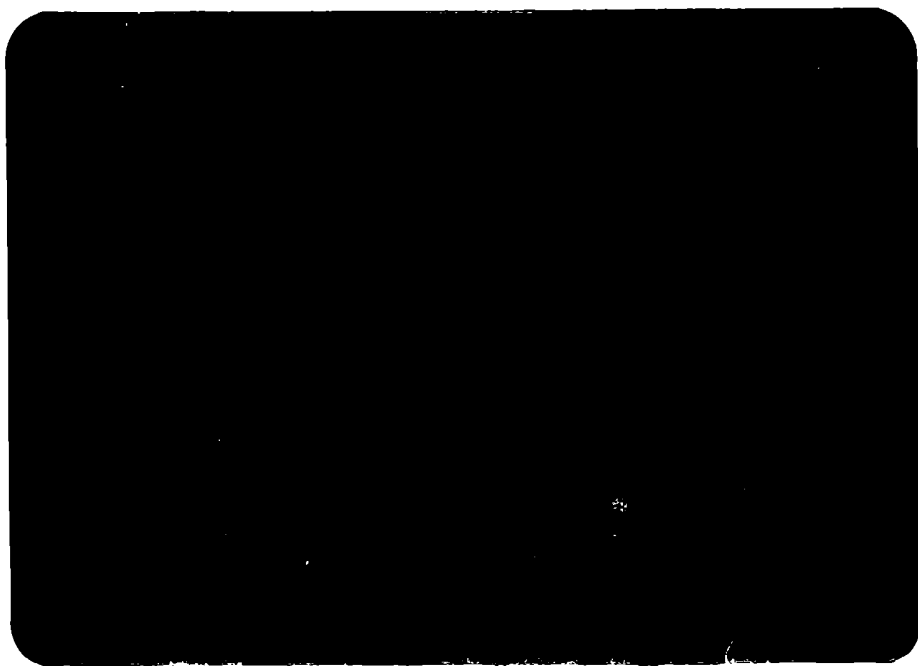


Foto N°46. Detalle de un pequeño islote de tejido vesiculoso. Nótese la característica vacuolización del citoplasma de sus células y la posición excéntrica del núcleo (Escala = 10 μ m).



Foto N°47. Conjunto de espermatozoides (hematoxilina de Heidenhein)
(Escala = 10 μ m).



Foto N°48. Idem, con Rosa de Bengala (Escala = 10 μ m).

6.2. MORFOLOGIA DEL ESPERMATOZOIDE

El espermatozoide de Anasterias minuta presenta la pieza media adherida a la parte posterior de la cabeza, como es característico de equinodermos y en particular de estrellas de mar. Ambas regiones juntas determinan una estructura que en otros asteroideos tiene forma aproximadamente esférica (Asterias amurensis y Asterina pectinifera, según Dan, 1954 y Hagiwara et al., 1967; Patiria (Asterina) miniata (Tyler y Tyler, 1966), y otros más). En Anasterias minuta, sin embargo, dicha estructura tiene el aspecto de un pequeño barril, levemente adelgazado hacia los extremos (fotos N° 47, 48 y 49). A su vez, el conjunto se halla comprimido longitudinalmente, de manera que visto de frente es más ancho que cuando se observa de perfil (foto N° 47). La longitud total de la cabeza más la pieza media es de 3 a 3,5 μm . Este valor es algo mayor que el indicado en la tabla I, debido al distinto tratamiento que han sufrido las células en uno y otro caso.

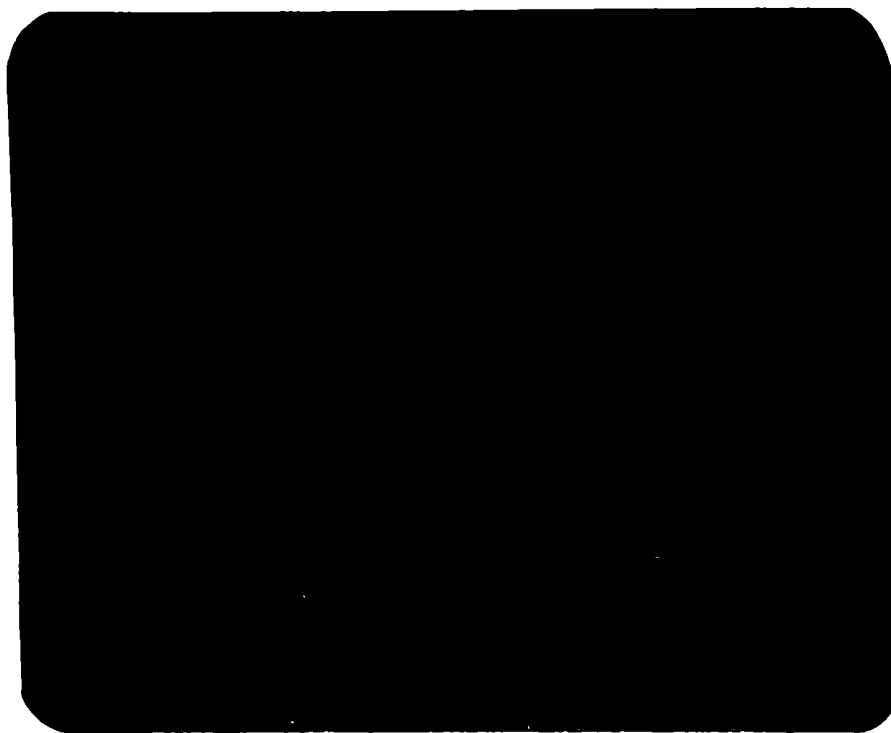


Foto N°49. Detalle de la foto anterior (Escala = 2 μ m).

El acrosoma, como en otras estrellas de mar, se ubica en una característica depresión del núcleo. En el espermatozoide de A.minuta, se observa el acrosoma como una zona anterior clara, que no se tiñe con los colorantes empleados (fotos N°39, 48 y 49).

La cola, como es habitual en equinodermos, es bastante larga (aproximadamente 40 μ m en A.minuta). Ella parece originarse en un costado del espermatozoide, probablemente en una de las caras angostas (foto N°48).

No obstante, sería interesante realizar estudios con microscopía electrónica para conocer detalles de la morfología y la ultraestructura del espermatozoide de A.minuta.

6.3. METODOS ESTADISTICOS

6.3.1. Determinación del índice gonadal

Se realizó un análisis de la correlación entre la longitud del brazo (R) y el peso húmedo del cuerpo (P) de Anasterias minuta. Se calculó el coeficiente de correlación "r", que resultó:

$$r = 0,93$$

Evidentemente, existe una correlación lineal positiva entre ambas variables.

Para estudiar la significación de la correlación, se calculó el intervalo de confianza del 95% para ρ , y el resultado fue:

$$\left[0,71 ; 1,15 \right]$$

con lo cual se rechaza la hipótesis nula $H_0: \rho=0$

Además, se analizó la correlación entre R y log P, de lo que resultó:

$$r = 0,64$$

por lo tanto se concluye que las variables más correlacionadas son, efectivamente, P y R.

6.3.2. Fecundidad

a. Relación entre fecundidad y volumen gonadal

En cada grupo A, B y C se realizó un análisis de correlación para poner a prueba la hipótesis de que la fecundidad real F_r aumenta con el incremento del volumen gonadal V_g . Para ello, en cada caso se calculó el coeficiente de correlación y se realizó la prueba de: hipótesis nula $H_0: \rho = 0$, contra hipótesis alternativa $H_1: \rho > 0$. Los resultados fueron los siguientes:

GRUPO	COEFICIENTE DE CORRELACION	GRADOS DE LIBERTAD	VALOR DEL ESTADISTICO DE PRUEBA
A	0,84	5	2,24 (S)
B	0,85	6	3,95 (S)
C	0,88	19	8,10 (S)

(Nota: S=significativo; NS= no significativo)

En la tabla se observa que en los tres grupos existe, efectivamente, una correlación lineal positiva entre la fecundidad real y el volumen gonadal.

b. Recuento de embriones en la cámara incubatriz

Para poner a prueba la hipótesis de que la relación entre el número de huevos y el número de pequeñas estrellas es de 2 a 1, se realizó una prueba chi-cuadrado (χ^2) para la bondad del ajuste. Los resultados fueron los siguientes:

	FRECUENCIAS OBSERVADAS	FRECUENCIAS ESPERADAS
HUEVOS	1077	1078
PEQUEÑAS ESTRELLAS	540	539

$\chi^2=0.003$ (NS)

O sea que, efectivamente, los valores observados no se apartan significativamente de los esperados.

6.3.3. Indice gonadal: variaciones a lo largo del año

Los datos del I.G. correspondientes al muestreo 1979/1980 fueron tratados estadísticamente mediante:

- i. Análisis de varianza de dos factores.
- ii. Comparaciones "a priori": Método de Bonferroni.

iii. Comparaciones "a posteriori": Método de Sheffé.

(Nota: Todas las significaciones se estudiaron con $P < 0,05$).

Resultados:

i. Análisis de varianza de dos factores.

La prueba de Bartlett rechazó la hipótesis de homocedacia, por lo cual los datos fueron transformados a logaritmos.

Tabla de análisis de varianza:

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	F
Entre meses	11	40,18 (S)
Entre sexos	1	88,23 (S)
Interacción:mes x sexo	11	3,29 (S)
Error	144	

De la tabla resulta que el I.G. varía significativamente entre los distintos meses del año y también entre los sexos.

ii. Comparaciones "a priori": Método de Bon-
ferroni

Número de comparaciones = 3

Valor crítico VC = 2,50

COMPARACION	VALOR DEL ESTADISTICO DE PRUEBA
1) Feb, Mar, Nov, Dic y Ene vs. Abr, May, Jun, Jul, Ago, Sep y Oct	13,58(S)
2) Feb y Ene vs. Mar, Nov y Dic	4,07(S)
3) Jul vs. Jun y Ago	1,33(NS)

Como se ve en la tabla, al comparar en el primer caso los valores de los cinco meses donde el desarrollo es máximo, con los de todos los otros meses del año, resultó que existen diferencias significativas entre ambos grupos.

En el caso 2) se consideró el periodo de mayor desarrollo, y se compararon, dentro de él, los dos meses con valores máximos, con los otros tres

meses; otra vez los resultados fueron significativos.

En el último caso, en cambio, al comparar el mes donde el I.G. es mínimo, con el anterior y el subsiguiente respectivamente, se ve que no existen diferencias significativas.

iii. Comparaciones "a posteriori": Método de Scheffé

VC = 4,44 (entre meses)

COMPARACION	VALOR DEL ESTADISTICO DE PRUEBA
1) Feb vs. May	10,52 (S)
2) May vs. Ago	0,47 (NS)
3) Ago vs. Feb	10,05 (S)

En estos tres casos se compararon, respectivamente, los extremos de las tres fases (a,b y c) de la curva de la Fig.7, y los resultados son los esperados.

Por último, se concluye que todos los resultados obtenidos de los análisis i., ii. y iii. concuerdan con lo expresado en el ítem 3.4.1.

INDIVIDUO N°	FECHA	V _g (en cm ³)	N _A	F _r	F _v	V _v
1	Febrero 1979	0,60	3,63	249,0	278,1	0,98
2	" "	1,15	3,38	434,1	252,9	0,97
3	" "	1,75	3,13	580,4	222,2	0,98
4	" "	1,00	3,30	364,2	244,0	0,96
5	" "	0,45	4,00	219,0	326,1	0,97
6	Marzo "	1,95	3,75	880,8	302,6	0,92
7	" "	0,85	3,83	399,5	314,9	0,91
8	Febrero 1984	0,25	3,86	129,4	346,7	0,75
9	" "	0,25	3,57	105,6	283,1	0,90
10	" "	0,30	3,86	150,5	336,1	0,81
11	" "	0,40	3,57	169,0	283,1	0,90
12	" "	0,30	3,50	129,0	288,1	0,83
13	" "	0,35	3,33	126,6	242,3	1,00
14	" "	0,40	3,50	173,3	290,3	0,81
15	" "	0,40	3,37	163,7	274,1	0,81
16	" "	0,30	3,63	150,5	336,1	0,68
17	" "	0,60	3,86	285,0	318,2	0,90
18	" "	0,50	3,14	178,3	239,0	0,87
19	" "	0,50	3,36	197,5	264,7	0,87
20	" "	0,60	3,00	201,5	225,0	0,85
21	" "	1,25	2,75	374,0	200,4	0,82
		$\bar{V}_g = 0,67$	$\bar{F}_r = 269,6$			

Tabla VI . Valores obtenidos en el cálculo de fecundidad en individuos del grupo C.