

Tesis de Posgrado

Estudio de la Vicariancia en alguna especies de anémonas de mar (CNIDARIA, ACTINIARIA) del intermareal de Brasil y Argentina con el uso de datos morfológicos y genéticos

Braga Gomes, Paula

Tesis presentada para obtener el grado de 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:

Braga Gomes, Paula. (). Estudio de la Vicariancia en alguna especies de anémonas de mar (CNIDARIA, ACTINIARIA) del intermareal de Brasil y Argentina con el uso de datos morfológicos y genéticos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3426_BragaGomes.pdf

Cita tipo Chicago:

Braga Gomes, Paula. "Estudio de la Vicariancia en alguna especies de anémonas de mar (CNIDARIA, ACTINIARIA) del intermareal de Brasil y Argentina con el uso de datos morfológicos y genéticos". Tesis de . Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. . http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3426_BragaGomes.pdf

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

**ESTUDIO DE LA VICARIANCIA EN ALGUNAS ESPECIES DE ANÉMONAS DE
MAR (CNIDARIA, ACTINIARIA) DEL INTERMAREAL DE BRASIL Y
ARGENTINA CON EL USO DE DATOS MORFOLÓGICOS Y GENÉTICOS**

Autora: PAULA BRAGA GOMES

Director: DR. MAURICIO O. ZAMPONI
Codirectora: DRA. GRACIELA B. ESNAL

Lugar de Trabajo: Laboratorio de Biología de Cnidarios
Departamento de Ciencias Marinas
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.

**Tesis para optar al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires, orientación
Ciencias Biológicas.**

Año 2001

Paula Braga Gomes

**ESTUDIO DE LA VICARIANCIA EN ALGUNAS ESPECIES DE ANÉMONAS DE MAR
(CNIDARIA, ACTINIARIA) DEL INTERMAREAL DE BRASIL Y ARGENTINA CON EL
USO DE DATOS MORFOLÓGICOS Y GENÉTICOS**

**Tesis para optar al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires, orientación
Ciencias Biológicas.**

**DIRECTOR: Dr. MAURICIO OSCAR ZAMPONI
Universidad Nacional de Mar del Plata**

**CO-DIRECTORA: Dra. GRACIELA BEATRIZ ESNAL
Universidad de Buenos Aires**

Buenos Aires

2001

**Dedico esta tesis a todos los ARGENTINOS
que de alguna forma me crucé en sus caminos;
gracias por compartir conmigo sus momentos,
sus trabajos, sus casas, sus familias, sus vidas,
haciéndome sentir, con orgullo, que Argentina
es mi HOGAR.**

... e é tão bonito quando a gente pisa firme nessas linhas que estão nas palmas de nossas mãos... e é tão bonito quando a gente vai à vida nos caminhos onde bate bem mais forte o coração...”

Luiz Gonzaga Jr.
(cantante brasileiro)

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a personas e instituciones que hicieron posible la realización de este trabajo;

al Dr. Mauricio O. Zamponi por haberme recibido en su laboratorio, brindándome todo su apoyo y dirigiendo esta tesis con mucha dedicación y profesionalismo;

a la Dra. Graciela B. Esnal por haber actuado como co-directora, consejera de estudios y también como amiga, siendo al mismo tiempo exigente y comprensiva;

a la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI, España) y a la Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal a Nivel Superior (CNPQ, Brasil) por la concesión de las becas para realización de los estudios doctorales;

a las autoridades de la Universidad Nacional de Mar del Plata y de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, donde el trabajo doctoral fue desarrollado;

a los compañeros del Laboratorio de Biología de Crudarios, por la ayuda, amistad y constante apoyo;

al Dr. Antonio M. Solé-Gava y a Renata Schamma del Laboratorio de Sistemática Molecular (Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil) por la ayuda en los análisis genéticos de la tesis, por el material de Curaçao y por el caluroso recibimiento con que me acogieron en el laboratorio durante mis viajes a Rio de Janeiro;

a la Dra. Elga Mayal (que continúa siendo mi madre científica) y a los compañeros del Laboratório de Macro e Megabentos (Universidade Federal de Pernambuco) por la ayuda y apoyo en la etapa de conclusión de la tesis doctoral;

a los siguientes profesionales por brindar ayudas logísticas fundamentales en el desarrollo de la tesis: Dra. Lía Goldemberg y su equipo (Laboratorio de Fisiología Animal, U.N.MdP, Argentina); Dra. Roxana Zenutto (Departamento de Biología, U.N.MdP); Dr. Marcelo Guerra y Ms. Ana Emilia Barros da Silva (Laboratorio de Citogenética Vegetal, UFPE, Brasil);

a la Dra. Cristina Raposo y la Lic. Fátima Correia (Departamento de Estadística, UFPE) por la ayuda en la parte estadística de la tesis;

al Dr. Roberto Violante (CERLAP, UNLP) por las informaciones otorgadas sobre el origen del Río de la Plata;

a Silvia y Roel Jungslager por el envío de las fotos de las playas de Curaçao;

a Carlos Pérez y Suzana Pinto por la colecta de ejemplares;

a las amigas del Laboratorio de Parasitología (UNMdP), Mabel, Juliana y Lucy, por la amistad y los agradables momentos vividos en la tranquilidad de la Estación Costera J. J. Nájera;

a todas las personas de la Universidad Nacional de Mar del Plata con quienes conviví en estos años por la receptividad y cariño;

a la dirección y maestras del Jardín Maternal de la Universidad Nacional de Mar del Plata, por cuidar tan bien de mis hijos, dándome la tranquilidad necesaria para realizar esta tesis;

a los amigos de mi marido que, poco a poco se tornaron mis amigos y que son responsables por el cambio de concepto que tenía sobre los argentinos, los cuales pasaron de ser "agrandados" a "grandiosos".

a la familia Domingo, "guardianes" de mi familia en Mar del Plata, gracias por cuidarnos y apoyarnos;

a Cecilia, mi amiga-hermana argentina;

a tío Chiche, tía Mary y Petty, las personas más buenas que conocí en toda mi vida, gracias por cuidarme tanto;

a Rodolfo, Mary, Diana, Ignacio, Vanesa, Fabiana, Hugo, Majo y Coni, mi familia argentina por adopción;

a mis padres (Pedro & Beth), por el apoyo incondicional y por aquel amor que sólo los padres pueden dar;

a Andrea, Fernanda y Marcelinho, por estar siempre a mi lado;

a Marcelo Domingo, el "ángel de la guarda" de esta tesis, el amor personalizado, un amigo "endosado" que siempre está cuando lo necesito;

a Carlos que, además de ser el mejor compañero de trabajo, un gran amigo, un excelente padre, el dueño de la pasión que desestabiliza y equilibra mi razón, es el fiel depositario de todo el amor que puedo sentir;

a Macarena y Thiago yo debería agradecerles, pero por qué? Por comprender mi ausencia, mi falta de paciencia, mi falta de tiempo? No puedo, pues creo que ellos aún no comprenden por qué mamá no estuvo tantas veces. Creo que debo pedirles perdón porque tuve que realizar esta tesis, agradecerles por el infinito amor que recibo constantemente, y esperar que algún día entiendan que todo esto lo hice por amarlos con toda mi alma;

Por último agradezco a Dios por haber colocado a todos Uds. en mi camino.

RESUMEN

Estudio de la vicariancia en algunas especies de anémonas de mar (Cnidaria, Actiniaria) del intermareal de Brasil y de Argentina con el uso de datos morfológicos y genéticos.

Se realizaron estudios morfológicos y genéticos con la anémona de mar *Bunodosoma cangicum* de Brasil. Para los estudios morfológicos se utilizaron cuatro poblaciones provenientes de: Piedade y Tamandaré en Pernambuco, Aracruz en Espírito Santo y Buzios en Río de Janeiro. Se estudiaron 14 caracteres morfológicos cuyas variaciones fueron analizadas con el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. Siete variables no presentaron la misma media en las cuatro localidades: número de vesículas por fila, número de tentáculos y de *acrorhagi*, diámetro de los *acrorhagi*, peso húmedo, altura de la columna y diámetro del margen. La población de Buzios fue la que más se diferenció, indicando la presencia de ecotipos. Se utilizó el test de correlación de Pearson para evaluar si los caracteres variaban de forma concomitante. Entre los caracteres estimadores de la talla, el peso húmedo fue el que mejor se correlacionó con los demás, resultando ser éste el carácter más representativo del tamaño real del individuo. El largo y ancho del esfínter se relacionaron significativamente entre sí pero con independencia de la talla. Asimismo se realizaron estudios genéticos comparando las especies *B. cangicum* de Brasil (Buzios y Tamandaré), *B. zamponianum* n. sp. de Argentina (Santa Clara del Mar y Punta Cantera), *B. caissarum* de Brasil (Buzios) y *B. granuliferum* de Curaçao (Caracas baai y Boka Saint Mitchel). Los estudios aloenzimáticos confirmaron que *B. zamponianum* pertenece al género en estudio, y es diferente de todas las demás especies. Esta especie y *B. cangicum* mostraron la identidad génica más elevada. Considerando las similitudes morfológicas y ecológicas, se discute la posible vicariancia de estas dos especies.

ABSTRACT

Studies on vicariance of some sea anemone species (Cnidaria: Actiniaria) from the intertidal zone of Brazil and Argentina using morphologic and genetic data.

The present work carries out a morphologic and genetic study on *Bunodosoma cangicum*, a species of sea anemone from Brazil. Four populations were used for the morphologic studies: Piedade and Tamandaré in Pernambuco, Aracruz in Espírito Santo and Buzios in Rio de Janeiro. Fourteen characters were studied and the results analyzed by the Kruskal-Wallis Test. Seven characters did not present the same average in the four localities: number of vesicles by row, number of tentacles and *acrorhagi*, *acrorhagi* diameter, wet weight, height of the column and diameter of the margin. The population of Buzios was the most different, indicating the presence of ecotypes. The Pearson Correlation Test was used to evaluate whether the characters varied in a concomitant way. The wet weight related positively to all the other characters estimators of the stature, verifying itself to be the most representative character of the real size of the individual. The length and width of the sphincter were related significantly, but independent of the stature. Genetic studies were also done comparing the species, *B. cangicum* from Brazil (Buzios and Tamandaré), *B. zamponianum* (new species described in this work) from Argentina (Santa Clara del Mar and Punta Cantera), *B. caissarum* from Brazil (Buzios) and *B. granuliferum* from Curaçao (Caracas Baai and Boka Saint Mitchel). The allozyme analysis confirmed that *B. zamponianum* belongs to the genus under study, and it is different from all the other species. In addition, this species and *B. cangicum* had the highest genetic identity. Thus, considering the morphological and ecological similarities, the possibility of these two species to be vicariants is discussed.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	PÁGINAS
Figura 1- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma zamponianum</i> para estudio sistemático.....	31
Figura 2- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma cangicum</i> para los estudios de variación morfológica.....	32
Figura 3- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma cangicum</i> en Pernambuco.....	34
Figura 4- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma cangicum</i> en Búzios, Rio de Janeiro para los estudios de variación morfológica.....	36
Figura 5- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma cangicum</i> en Aracruz, Espírito Santo.....	38
Figura 6- Localidades de muestreo de las especies de <i>Bunodosoma</i> spp. utilizadas en los estudios genéticos.....	39
Figura 7- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma zamponianum</i> en Buenos Aires para estudios genéticos.....	40
Figura 8- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma caissarum</i> en Búzios.....	42
Figura 9- Localidades de muestreo de <i>Bunodosoma granuliferum</i> en Curaçao.....	43
Figura 10- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Aspecto externo.....	46
Figura 11- <i>Bunodosoma zamponianum</i> . Aspecto externo.....	63
Figura 12- <i>Bunodosoma zamponianum</i> . Cortes histológicos de esfínter y tentáculo.....	64
Figura 13- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Media y rango de variación de vesículas en las poblaciones.....	71
Figura 14- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Media y rango de variación de vesículas, tentáculos, <i>acrorhagi</i> , mesenterios y esfínter en las poblaciones.....	72
Figura 15- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Media y rango de variación de esfínter, sifonoglifos, peso húmedo, altura y diámetro de la columna	

en las poblaciones.....	73
Figura 16- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Tamandaré-PE. Porcentaje de frecuencia de los valores.....	75
Figura 17- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Piedade- PE. Porcentaje de frecuencia de los valores.....	75
Figura 18- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Búzios-RJ. Porcentaje de frecuencia de los valores.....	76
Figura 19- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Aracruz-ES. Porcentaje de frecuencia de los valores.....	76
Figura 20- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Porcentaje total de frecuencia de los valores en todas las localidades.....	77
Figura 21- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Porcentaje de las condiciones sexuales en las 4 localidades.....	77
Figura 22- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Comparación de las medias entre las localidades para las variables que presentaron diferencias significativas.....	80
Figura 23- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Comparación de las medias entre las localidades para las variables que presentaron diferencias significativas.....	80
Figura 24- <i>Bunodosoma</i> spp. Dendrograma UPGMA construido sobre la base de las Identidades génicas, I entre las poblaciones.....	86

LISTA DE TABLAS

TABLAS	PÁGINAS
Tabla I- Ejemplares del género <i>Bunodosoma</i> utilizados en el estudio sistemático.....	45
Tabla II- Ejemplares del género <i>Bunodosoma</i> utilizados en el estudio morfológico.....	47
Tabla III- Ejemplares del género <i>Bunodosoma</i> utilizados en el estudio genético.....	51
Tabla IV- <i>Bunodosoma</i> spp. Enzimas estudiadas, sus números en la Comisión de Enzimas y Abreviaturas.....	53
Tabla V- Cnidoma de <i>Bunodosoma zamponianum</i>	65
Tabla VI- Comparación de los principales aspectos morfológicos entre <i>Phymactis clematis</i> , <i>Bunodosoma zamponianum</i> y <i>B. cangicum</i>	66
Tabla VII- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Tamandaré- PE. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos analizados.....	69
Tabla VIII- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Piedade- PE. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados.....	69
Tabla IX- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Búzios- RJ. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados.....	70
Tabla X- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Aracruz- ES. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados.....	70
Tabla XI- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Todas las poblaciones. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados.....	71
Tabla XII- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Tamandaré- PE. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los cnidocistos analizados.....	74

Tabla XIII- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Piedade- PE. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los cnidocistos estudiados.....	74
Tabla XIV- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Aracruz- ES. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los cnidocistos estudiados.....	74
Tabla XV- <i>Bunodosoma cangicum</i> - Búzios- RJ. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los cnidocistos estudiados.....	74
Tabla XVI- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Porcentaje de los estados sexuales en las localidades.....	78
Tabla XVII- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Resultado del test de Kruskal-Wallis.....	79
Tabla XVIII- <i>Bunodosoma cangicum</i> . Comparación dos a dos de las medias entre las localidades.....	79
Tabla XIX- <i>Bunodosoma</i> spp. Frecuencias alélicas y tamaños muestrales para los 22 <i>loci</i> estudiados en las poblaciones.....	82
Tabla XX- <i>Bunodosoma</i> spp. Identidad génica, I y distancia génica, D.....	85
Tabla XXI- <i>Bunodosoma</i> spp. Variabilidad genética de los 22 <i>loci</i> en las poblaciones estudiadas.....	86

CONTENIDOS

1. Introducción	
1.1. Las anémonas de mar.....	15
1.2. El estudio de las anémonas de mar en Brasil.....	17
1.3. El estudio de las anémonas de mar en Argentina.....	18
1.4. Las variaciones morfológicas.....	19
1.4.1. Las variaciones morfológicas en general y sus significados.....	19
1.4.2. Las variaciones morfológicas en anémonas de mar.....	21
1.4.3. Antecedentes sobre variación morfológica en Brasil y Argentina.....	22
1.5. Los estudios genéticos.....	23
1.5.1. Electroforesis de aloenzimas: sus usos y aplicaciones.....	23
1.5.2. Significado de polimorfismo, heterocigosis y distancia génica.....	24
1.5.3. Estudios en anémonas de mar.....	25
1.6. El género <i>Bunodosoma</i>	26
1.6.1. Número de especies y distribución geográfica del género <i>Bunodosoma</i>	26
1.6.2. El género <i>Bunodosoma</i> en Brasil.....	27
2. Objetivos	
2.1. Objetivo general.....	28
2.2. Objetivos específicos.....	28
2.3. Objetivos secundarios.....	29
3. Metodología	
3.1. Metodología de campo.....	30
3.1.1. Localidades de muestreo.....	30
3.1.2. Muestreo.....	44
3.1.3. Acondicionamiento y transporte.....	44
3.2. Metodología de laboratorio.....	44
3.2.1. Estudio sistemático de <i>Bunodosoma zamponianum</i> n.sp.....	44
3.2.2. Material para comparación morfológica.....	45
3.2.2.1. Lista del material estudiado.....	45
3.2.2.2. Anestesia y fijación.....	47
3.2.2.3. Análisis cuantitativos de los caracteres morfológicos.....	47

3.2.3. Material para estudios genéticos.....	51
3.2.3.1. Lista del material utilizado.....	51
3.2.3.2. Fijación y conservación.....	51
3.2.3.3. Electroforesis de aloenzimas.....	52
3.3. Análisis de los datos.....	54
3.3.1. Análisis de los datos morfológicos.....	54
3.3.2. Comparación morfológica entre las poblaciones	55
3.3.3. Análisis de los datos de aloenzimas.....	56
3.3.4. Comparación genética entre las poblaciones.....	56
4. Resultados	
4.1. Descripción de <i>Bunodosoma zamponianum</i> n. sp.....	57
4.2. Datos morfológicos.....	67
4.2.1. Análisis de cada variable.....	67
4.2.2. Comparación entre las poblaciones.....	78
4.3. Datos genéticos.....	81
4.3.1. Análisis de los datos.....	81
5. Discusión.....	86
6. Conclusiones.....	100
7. Referencias Bibliográficas.....	102

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LAS ANÉMONAS DE MAR

Los organismos comúnmente conocidos como anémonas de mar son ecológicamente muy exitosos (CARLGREN, 1949). De esto resulta su abundancia, estando presentes en ambientes marinos muy diversificados. Pertenecen a tres órdenes dentro de los antozoos hexacorales: Actiniaria, Corallimorpharia y Ptychodactiaria (CARLGREN, 1949), sin embargo actualmente CAPPOLA & FAUTIN (2000) reconocen con validez taxonómica sólo a los dos primeros ya que el orden Ptychodactiaria, con tres únicas especies, ha sido incluida en Actiniaria el cual es el mayor orden, en número de representantes conocidos y al cual pertenecen las especies tratadas en el presente trabajo. Sus representantes tienen amplia distribución en el ambiente marino pudiendo extenderse hasta áreas estuariales, habitando desde la zona intermareal hasta profundidades abisales. Se encuentran sobre arrecifes, rocas, enterrados en la arena, y muchas veces asociados con otros organismos.

Los representantes del orden Actiniaria son organismos relativamente simples, que se caracterizan básicamente por ser pólipos solitarios con un cuerpo cilíndrico, presentando una extremidad proximal de fijación adhesiva o disco pedal para adherirse a substratos duros o una physa que se entierra en substratos blandos, y una extremidad distal donde se localiza la boca. En esta extremidad oral se encuentran, circundando a la boca, estructuras utilizadas en la alimentación y defensa denominadas tentáculos. La boca lleva a una faringe tubular, que es una invaginación de la pared del cuerpo. La cavidad gastrovascular de estos animales está radialmente dividida por mesenterios o septos. Estos mesenterios, en la mitad superior de la cavidad gastrovascular, pueden estar unidos a la faringe, que se extiende hasta la mitad o hasta los dos tercios de la columna, y a partir de ahí los mesenterios presentan un borde libre donde se encuentran filamentos con funciones digestivas. Las gónadas, cuando están presentes, se ubican en los mesenterios. Las anémonas poseen una serie de músculos responsables de la capacidad de contracción; los principales son los retractores, presentes en todos los mesenterios, y un esfínter que circunvala el margen de la columna. Además de estos, otros músculos están presentes en diversas regiones del cuerpo del animal, como en la base donde se localizan los músculos parietobasiliares que es el lugar de inserción de los mesenterios con la columna.

Las anémonas, así como todos los representantes del phylum Cnidaria, se caracterizan por la presencia en sus tejidos de estructuras celulares denominadas cnidocistos, las cuales son diagnósticas para el grupo (MARISCAL, 1974). Los cnidocistos comprenden tres tipos principales: nematocisto (con mayor variedad de formas y presente en todo el phylum), espirocisto (exclusivo de los hexacorales) y ptychocisto (exclusivo de los ceriantarios) (WILLIAMS, 1996). En el caso de las anémonas, el reconocimiento de los tipos de cnidocistos existentes en las diversas partes del cuerpo del animal como columna, filamentos, tentáculos, etc. es una importante herramienta en la taxonomía (CARLGREN, 1949; HAND, 1961).

Entre las anémonas existen especies dioicas y hermafroditas. También pueden presentar reproducción asexual. El período reproductivo, así como las estrategias reproductivas, puede variar de una especie a otra y con la latitud y profundidad. Poseen una alimentación muy variada, pudiendo alimentarse de algas, pequeños moluscos, crustáceos y hasta, eventualmente, de insectos (ACUÑA & ZAMPONI, 1995). Comúnmente las anémonas son caracterizadas como voraces predadoras (SHICK, 1991); se han realizado varios estudios sobre diversos aspectos de la alimentación de actinarios (MÖLLER, 1978; ZAMPONI, 1979a; CHINTIROGLOU & KOUKOURAS, 1991). EXCOFFON & ZAMPONI (1993) caracterizaron a la anémona acontiaría *Tricnidactis errans* Pires, 1988 de Mar del Plata como una especie oportunista, y ACUÑA & ZAMPONI (1996) registraron al mitilido *Brachydontes rodryguezi* d'Orbigny, 1846 como la principal presa de las anémonas intermareales de Mar del Plata, además estudiaron las relaciones entre la talla, peso y disponibilidad de presa en comparación con los mismos aspectos del predador. Asimismo, fue importante la demostración de que las anémonas, además de alimentarse por predación y a través de la simbiosis con zooxantelas presentes en los tejidos de algunas especies, también pueden utilizar la materia orgánica disuelta (MOD) en el océano. La incorporación de MOD se realiza a través de la superficie del cuerpo del animal, constituyéndose en una estrategia para contrarrestar la deficiencia de alimento particulado en el medio (SCHLICHTER *et al.*, 1986).

Ecológicamente las anémonas ganan aún más importancia para las comunidades bentónicas marinas cuando consideramos las diversas asociaciones presentadas por el grupo. La más conocida es la simbiosis con algas zooxantelas que pueden ser

responsables de gran parte de la nutrición de la anémona y de su coloración (TYTLER & DAVIES, 1984; WEIS, 1990; HARLAND & DAVIES, 1994, 1997). También se estudiaron los complejos comensales asociados; la mayoría de los organismos identificados en estos complejos eran pequeños crustáceos (MAHKEN, 1972; HERRNKIND *et al.*, 1976). Otra importante asociación ocurre con cangrejos pagúridos; el patrón de comportamiento de las especies fue objeto de investigación de varios autores (CUTRESS & ROSS, 1969; ROSS, 1975; HAND, 1975 y ROSS & ZAMPONI, 1982). Con respecto a la asociación de las anémonas con moluscos gastrópodos, ATES (1997) presentó una completa revisión, registrando más de 30 combinaciones de pares específicos.

La importancia de las anémonas para el hombre está en su posible utilización en las industrias químicas y farmacéuticas. Un ejemplo de eso es la utilización de la especie brasileña *Bunodosoma caissarum* Corrêa en Belém, 1988 para la extracción de componentes biológicamente activos (KELECOM *et al.*, 1982) y como biomonitor radioactivo (GOUVEA *et al.*, 1985). Estudios realizados por LAGOS *et al.* (2001) en la especie *Bunodosoma cangicum* Corrêa en Belém & Preslercravo, 1973, revelaron efectos hemolíticos y neuroactivos potentes en el veneno de esta especie. Asimismo, ANEIROS *et al.* (1983), encontraron dos proteínas muy potentes con acción neurotóxica en la especie *Bunodosoma granuliferum* (Lesueur, 1817). DUNN *et al.* (1975) discutieron la actividad antineoplásica de celenterados, cuyo origen podría estar en la abundante presencia de zooxantelas en los tejidos de la mayoría de los cnidarios, y concluyeron que la actividad era ejercida por el animal y no por las microalgas. Otros diversos estudios se encuentran en realización en todo el mundo con la intención de aprovechar mejor a estos organismos como fuente potencial de sustancias importantes para la industria química y farmacéutica.

1.2. EL ESTUDIO DE LAS ANÉMONAS DE MAR EN BRASIL

En Brasil, el estudio de las anémonas de mar se inició en la década del 60, con el trabajo de CORRÊA (1964), que describió 10 especies del litoral de São Paulo. Hasta entonces, sólo habían sido citadas cuatro especies para toda la costa brasileña. Esta autora

continuó con sus estudios de la anemonofauna brasileña (CORRÊA, 1965, 1973a, 1973b; CORRÊA & SCHLENZ, 1976), y otros investigadores comenzaron a dar sus contribuciones con estudios en otras provincias como Espírito Santo (BELÉM & PRESLECRRAVO, 1973; BELÉM, 1976, 1980;), Rio de Janeiro (BELÉM & MONTEIRO, 1977, 1981; BELÉM, 1987, 1988; PIRES, 1988); Bahia (DUBE, 1974, 1975, 1976, 1978, 1983), Fernando de Noronha (BELÉM & SCHLENZ, 1989; BELÉM & PINTO, 1990; PIRES *et al.*, 1992); Atol da Rocas (SCHLENZ & BELÉM, 1992; ECHEVERRÍA *et al.*, 1997) y Pernambuco (GOMES, 1996, GOMES & MAYAL, 1997a; GOMES & ZAMPONI, 1998). Como resultado de estos y otros trabajos, se conocen en la actualidad 29 especies de anémonas de mar para el litoral brasileño (ZAMPONI *et al.*, 1998). GOMES & MAYAL (1997b) realizaron una reseña histórica sobre los estudios de las anémonas de mar en Brasil.

La gran mayoría de estos trabajos fueron de naturaleza sistemática; sólo se realizaron unos pocos estudios sobre aspectos ecológicos con especies brasileñas. TRALDI & SCHLENZ (1990) evaluaron las estrategias de ocupación de un paredón rocoso por cinco especies de anémonas de mar en el litoral de São Paulo, relacionando las adaptaciones morfológicas y fisiológicas de cada una con el microhábitat ocupado. GOMES *et al.* (1998), estudiaron la distribución, adaptación y abundancia de tres especies de actinarios en el intermareal de Tamandaré (Pernambuco). Otros estudios dieron énfasis a la biología reproductiva de las especies: ROSSO (1984) describió la especie *Psamanthus caraguaensis* y estudió en detalle su biología reproductiva y BELÉM (1987) estudió la reproducción de la especie *Bunodosoma caissarum*.

En Brasil existen trabajos que tratan de la genética poblacional y otros aspectos genéticos en las anémonas de mar, pero estos estudios serán discutidos más adelante.

1.3. EL ESTUDIO DE LAS ANÉMONAS DE MAR EN ARGENTINA

El estudio de la anemonofauna argentina fue iniciado con los trabajos pioneros de ZAMPONI (1974, 1977, 1978a, 1978b y 1979b). Los estudios comprendieron diferentes áreas de la costa argentina como la provincia de Buenos Aires, en especial Mar del Plata y localidades vecinas, así como el sur del país con estudios de especies provenientes de Puerto Madryn, provincia de Chubut (ZAMPONI & ACUÑA, 1992). Los estudios sistemáticos

tuvieron continuidad (EXCOFFON & ZAMPONI, 1993; ACUÑA, 1995; EXCOFFON *et al.*, 1997) y a ellos se sumaron estudios ecológicos (ZAMPONI, 1980; ACUÑA & ZAMPONI, 1992), principalmente sobre la ecología trófica de actinarios del intermareal marplatense (ZAMPONI, 1979a; ACUÑA, 1995; ACUÑA & ZAMPONI, 1995, 1996), estudios de densidad, dispersión y autoecología (ACUÑA & ZAMPONI, 1995, 1996) y algunos trabajos de zoogeografía (ZAMPONI & ACUÑA, 1991; ZAMPONI *et al.*, 1998). También es importante la contribución dada al conocimiento de la biología reproductiva de actinarios a través de los trabajos de ZAMPONI (1993), ZAMPONI & EXCOFFON (1986) y EXCOFFON & ZAMPONI (1991, 1995, 1996, 1997). Varios estudios encararon la variación morfológica en anémonas de mar en Argentina y la variación de los cnidocistos en estos organismos, pero este tema será tratado en la próxima parte del presente trabajo.

Actualmente se conocen 17 especies de anémonas del orden Actiniaria para el litoral argentino. Gran parte de esta fauna es característica de aguas subtempladas frías y es exclusiva de la Región Austral (ZAMPONI *et al.*, 1998). Solamente las especies *Tricnidactis errans* Pires, 1988 y *Anthothoe chilensis* (Lesson, 1830) comparten las costas de Brasil y Argentina; los nichos ecológicos similares en el intermareal de los dos países son, en general, ocupados por distintos géneros de la familia Actiniidae, la más común en el ambiente intermareal. El único género en común en la costa de los dos países es el género *Bunodosoma*.

1.4. LAS VARIACIONES MORFOLÓGICAS

1.4.1. LAS VARIACIONES MORFOLÓGICAS EN GENERAL Y SU SIGNIFICADO

Lo que limita la sistemática de cualquier grupo de organismos es el número de parámetros utilizables para describirlo. Estos parámetros deben presentar variación en el grupo en estudio, pero deben ser conservados lo suficiente para permitir la identificación de subgrupos dentro del grupo en cuestión (KLATAU *et al.*, 1994). La variación morfológica puede ser definida por la presencia de diferencias fenotípicas en caracteres morfológicos dentro de una población (variación intrapoblacional) o entre poblaciones diferentes (variación interpoblacional). Lógicamente el grado de variación y su importancia para la

población son muy fluctuantes y pueden llegar a determinar la mejor capacidad adaptativa de una población a cierto tipo de ambiente. De esta manera, las variaciones morfológicas más conspicuas son normalmente utilizadas para distinguir especies, aún cuando estas variaciones no sean exactamente la razón del aislamiento reproductivo entre las mismas. En este caso, estamos tratando de variación interespecífica, cuyas diferencias van a definir los caracteres diagnósticos de cada una de las especies. No obstante, en una misma especie pueden existir variaciones de algunos aspectos morfológicos sin involucrar especies diferentes. En este caso, es posible identificar dos tipos de variación: la del individuo y la poblacional. En el primer caso, la variación indica una adaptación del individuo a determinada condición, mientras que la variación interpoblacional adapta toda una población a la condición general del ambiente en que vive. En ambos casos se trata de la plasticidad fenotípica del carácter que se encuentra variando. Esta variación no es causada por, ni lleva a un aislamiento reproductivo, constituye una simple plasticidad del carácter tratado, que no siempre se trata de un único carácter. En algunos grupos de organismos es común encontrar una gran cantidad de caracteres posibles de variación, conformando, a veces, taxa zoológicos con mayor plasticidad fenotípica.

El límite entre la variación morfológica resultante de la plasticidad fenotípica o de diferencias genéticas es muy tenue. Esto dificulta mucho el trabajo del taxónomo para identificar las características diagnósticas de las especies. Además, muchas veces la simplicidad estructural del organismo reduce el número de parámetros utilizables para su descripción y caracterización. Durante mucho tiempo se practicó una sistemática basada solamente en caracteres morfológicos y, en la mayoría de los casos, se adoptó una posición conservadora manteniendo como variables morfológicas de una misma especie a todas las diferentes formas de la misma.

Las variaciones son muy comunes tanto en animales como en vegetales y su significado está intrínsecamente relacionado con las condiciones ambientales y las adaptaciones de los taxa. En general cuando se habla de estudios de variación morfológica, se acostumbra referir a estudios que tratan de la variación intraespecífica e interpoblacional, objetivando asociar estas variaciones con las condiciones ambientales más importantes en el medio y para el desarrollo de determinado grupo de organismos.

1.4.2. LAS VARIACIONES MORFOLÓGICAS EN ANÉMONAS DE MAR

La sistemática de las anémonas se basa, fundamentalmente, en aspectos morfológicos, histológicos y análisis del cnidoma (conjunto de todos los cnidocitos existentes en una especie). Estos organismos, no obstante, poseen una gran plasticidad fenotípica y algunos de estos caracteres presentan variaciones provocadas por las condiciones ambientales, dificultando el trabajo del taxónomo.

UCHIDA (1936), basándose en la coloración, identificó cuatro formas diferentes de *Haliplanella luciae* (Verril, 1898) para Japón. WILLIAMS (1973), estudió el comportamiento alimenticio de esta misma especie determinando la existencia de razas ecológicas independientes de las morfológicas. En la especie *Phymactis clematis* Dana, 1849 de Chile se encontraron diferentes formas o ecotipos (BRACE, 1981) y FRANCIS (1973, 1976, 1979, 1988) realizó una serie de estudios en *Anthopleura elegantissima* Brandt, 1835 identificando distintas formas sobre la base de la coloración, comportamiento clonal y agresivo. Asimismo, las estructuras microscópicas, consideradas menos propensas a las variaciones fenotípicas (GRAVIER-BONNET, 1987), demostraron también tener variaciones. Este es el caso de los cnidocistos, importantes herramientas en la sistemática de actinarios. En 1934, WEILL ya consideraba que la influencia de factores exógenos y endógenos podría afectar la distribución y talla de los cnidocistos. De hecho, ZAMPONI & ACUÑA (1991) comprobaron la variación en la talla de los mismos en función de la latitud y batimetría determinando la existencia de clines. Varios trabajos comprobaron la relación entre la talla del cnidocisto y la edad y el tamaño del individuo (DUNN, 1981; DOUMENC *et al.*, 1989 y CHINTIROGLOU & SIMSIRIDOU, 1997). Por todo lo expuesto, la sistemática de las anémonas de mar resulta complicada por la dificultad de usar muchos caracteres morfológicos que presentan gran plasticidad. El tamaño y forma del cuerpo, por ejemplo, varían según el estado nutricional, además de las variaciones provocadas por la reproducción asexual (McCOMMAS, 1991). De esta manera, es difícil la elección de los caracteres más importantes en la determinación de los taxa, en especial de alto nivel como familias u órdenes. Se espera que estudios detallados de las variaciones morfológicas entre poblaciones de varias especies, como el presente estudio, puedan auxiliar a dilucidar dicha cuestión.

1.4.3. ANTECEDENTES SOBRE VARIACIÓN MORFOLÓGICA EN BRASIL Y ARGENTINA

En Brasil no existen trabajos sobre las variaciones morfológicas de las anémonas de mar. En Argentina, se han realizado importantes estudios de las variaciones morfológicas de actinarios del intermareal de Mar del Plata (ZAMPONI & ACUÑA, 1991; PÉREZ, 1992; ACUÑA, 1993; ACUÑA & ZAMPONI, 1995, 1996, 1997; ZAMPONI & PÉREZ, 1996, 1997). Las tres especies estudiadas fueron: *Bunodosoma zamponianum* (considerada *Phymactis clematis*); *Aulactinia reynaudi* (Milne-Edwards, 1857) y *Aulactinia marplatensis* (Zamponi, 1977). Es importante hacer un breve resumen de algunos de estos, ya que sirvieron de referencia para la elaboración del proyecto de esta tesis, y los resultados fueron usados para la comparación directa con los resultados del presente trabajo.

➤ PÉREZ, 1992

En su trabajo de tesis de Licenciatura, Pérez realizó un estudio comparativo de las tres especies de actinarios citadas anteriormente, para el intermareal de Santa Clara del Mar y de Mar del Plata. El autor utilizó varias estructuras de valor diagnóstico en la sistemática de las anémonas de mar e hizo la medición y/o conteo de las mismas. Posteriormente, analizó estadísticamente si estos caracteres variaban a lo largo del año y entre las zonas estudiadas. De todos los caracteres utilizados, algunos presentaron variaciones que parecieron estar más relacionadas con el estado de contracción del animal (distancia entre las vesículas y distancia entre las verrugas); otros se mostraron estables (número de columnas de vesículas/verrugas; tamaño de las vesículas/verrugas; número de acrorhagus; número de tentáculos); y algunos presentaron diferencias significativas entre las áreas estudiadas (número de vesículas por columna, número total de vesículas, número de mesenterios). Comparando las especies, *B. zamponianum* se mostró más variable, mientras que *A. reynaudi* fue la que menos varió. Sobre la base de estos resultados y de los que estaban siendo obtenidos por ACUÑA (que después fueron presentados en su tesis doctoral), el autor propuso la existencia de ecotipos diferentes en las playas de Santa Clara del Mar y Punta Cantera que, probablemente, estarían relacionados con el tipo de moda agitada y el substrato duro de Punta Cantera comparado a la moda calma y substrato de menor dureza de Santa Clara del Mar.

➤ ACUÑA, 1993

El trabajo de tesis doctoral del autor trató sobre la ecología poblacional de las especies de actinarios ya citadas en las playas de Punta Cantera, Punta Piedra y Santa Clara del Mar. Básicamente, el trabajo evaluó la abundancia, dispersión y talla de las anémonas, además de comparar la talla de los cnidocistos entre las localidades, para cada especie. Como resultado, el autor halló diferencias importantes entre las poblaciones de anémonas de Punta Cantera y Santa Clara del Mar. En la primera playa, los ejemplares de la especie *B. zamponianum* fueron menores y más abundantes, localizándose en grietas o expuestos, siendo su talla mayor en las grietas. En Santa Clara del Mar, los individuos eran mayores en su talla y con una abundancia menor, ubicándose preferentemente en grietas. En ambas localidades, la dispersión de la especie fue agrupada. El mismo resultado se obtuvo para las otras dos especies estudiadas; además, se compararon las tallas de los cnidocistos de esas especies en las dos áreas encontrándose que eran mayores en Santa Clara del Mar. De esta forma, este estudio también propone la existencia de ecotipos diferentes en las dos playas.

Además, es importante resaltar los estudios realizados sobre la variación en la talla de los cnidocistos en especies de anémonas del litoral argentino (ZAMPONI & ACUÑA, 1991; ACUÑA & ZAMPONI, 1997). Estos trabajos demostraron que la talla de los cnidocistos sufre variaciones relacionadas con la batimetría y latitud, llegando a determinarse la existencia de clines, además de auxiliar en la identificación de razas ecológicas.

1.5. LOS ESTUDIOS GENÉTICOS

1.5.1. ELECTROFORESIS DE ALOENZIMAS: SUS USOS Y APLICACIONES

Las aloenzimas son un producto directo de un *locus* génico que poseen movilidades eléctricas diferentes (AVISE, 1974). Los patrones de formación de bandas en un gel, después de la electroforesis de las aloenzimas, pueden ser usados para estimar las frecuencias genotípicas de los *loci* estudiados debido a que son un marcador codominante y de herencia mendeliana simple. De esta manera, la electroforesis de aloenzimas permite una estimación de la variabilidad génica y su repartición en una gran cantidad de poblaciones

naturales. La ventaja más grande de esta técnica es que uno accede directamente al *pool* génico de las poblaciones en estudio, permitiendo la observación del flujo génico entre las mismas, lo que es fundamental para la delimitación de especies.

Las poblaciones que evolucionan separadamente, sin flujo génico entre ellas, se van a diferenciar debido al surgimiento y fijación azarosa de diferentes alelos en cada población. De esta manera, el estudio de las frecuencias génicas entre poblaciones posibilita saber cuán diferenciadas se encuentran.

La electroforesis de aloenzimas es una técnica muy usada para la delimitación de especies crípticas en varios invertebrados marinos (THORPE & SOLÉ-CAVA, 1994). Además de su uso en la solución de problemas sistemáticos, es utilizada con éxito en estudios para clarificar cuestiones reproductivas (GASHOUT & ORMOND, 1979; CARTER & THORP, 1979; SCHAEFER, 1981; SEBENS, 1982; McFADDEN, 1997; MONTEIRO *et al.*, 1998) y también en análisis filogenéticos (McCOMMAS, 1991; SOLÉ-CAVA *et al.*, 1994). Muchas veces, los estudios genéticos otorgan otro punto de vista interesante sobre la ecología, sistemática y biología reproductiva de los organismos.

1.5.2. SIGNIFICADO DEL POLIMORFISMO, HETEROCIGOSIS Y DISTANCIA GÉNICA

La electroforesis de aloenzimas permite estimar las frecuencias genotípicas; las cuales permiten el cálculo de las frecuencias génicas y éstas son utilizadas para calcular diversos parámetros para análisis intrapoblacional e interpoblacional. Algunos índices proporcionan estimaciones de la variabilidad intrapoblacional, como la heterocigosis media (observada y esperada), el número efectivo de alelos y el grado de polimorfismo.

Según el concepto biológico (MAYR, 1963) y también filogenético (CRACRAFT, 1989) de especie, dos morfotipos simpátridos deberían, si son coespecíficos, componer una misma unidad evolutiva. Asumiendo errores relacionados al muestreo, deberían tener las mismas frecuencias génicas en cada *locus* (THORPE & SOLÉ-CAVA, 1994). La ausencia de flujo génico entre poblaciones simpátridas, observada por la presencia de *loci* diagnósticos (definido por AYALA, 1983), indica que dichas poblaciones se encuentran evolutivamente separadas, o sea que no existe flujo génico entre ellas y, por lo tanto, son especies diferentes.

En poblaciones alopátridas en las cuales la diferencia en las frecuencias génicas no indica de forma clara la presencia de especies distintas, es necesario el uso de otras estimaciones de diferenciación. En la literatura fueron descritas muchas estimaciones de diferenciación calculadas a partir de las frecuencias génicas; actualmente, la más utilizada es la identidad génica (I de NEI, 1978), que varía de 0 (ninguna similitud) a 1. Dicha estimación es la forma de cuantificar las diferencias genéticas encontradas y puede indicar el grado de aislamiento de las poblaciones.

1.5.3. ESTUDIOS EN ANÉMONAS DE MAR

Las anémonas de mar son consideradas muy interesantes para estudios tanto en el ámbito ecológico como genético debido a su alto nivel de variación genética, a su gran diferenciación entre poblaciones geográficamente cercanas y a su posible segregación de nichos en escala local (SOLÉ-CAVA & THORPE, 1992).

La genética de poblaciones y la sistemática alfa (*sensu* MAYR, 1963) ya fueron estudiadas en muchos géneros de anémonas como: *Actinia* (AYRE, 1983; QUICKE & BRACE, 1983, 1984; HAYLOR *et al.*, 1984; QUICKE *et al.*, 1983, 1985; DONOGHUE *et al.*, 1985; SOLÉ-CAVA & THORPE, 1987, 1992; MONTEIRO *et al.*, 1997; PERRIN *et al.*, 1999), *Anthopleura* (SMITH & POTTS, 1987; MCFADDEN *et al.*, 1997; PEARSE & FRANCIS, 2000; MANCHENKO *et al.*, 2000), *Anthothoe* (BILLINGHAM & AYRE, 1996), *Bunodosoma* (MCCOMMAS & LESTER, 1980; MCCOMMAS, 1982; RUSSO *et al.*, 1994;), *Epiactis* (EDMANDS, 1996; EDMANDS & POTTS, 1997), *Haliplanella* (SHICK & LAMB, 1977; SHICK *et al.*, 1979; MCMANUS *et al.*, 1997), *Metridium* (HOFFMAN, 1976; 1981; 1986; 1987; BUCKLIN & HEDGECOCK, 1982; BUCKLIN, 1985), *Oulactis* (HUNT & AYRE, 1989), *Sargatia* (SHAW *et al.*, 1987; SHAW, 1991), y *Urticina* (SOLÉ-CAVA *et al.*, 1985; SOLÉ-CAVA *et al.*, 1994).

Es importante resaltar también que algunos estudios sobre filogenia fueron llevados a cabo en anémonas de mar. La familia Actiniidae, la más grande de todas en número de especies y a la cual pertenecen las especies utilizadas en el presente trabajo, fue parcialmente estudiada filogenéticamente, con utilización de datos isoenzimáticos (MCCOMMAS, 1991; SOLÉ-CAVA *et al.*, 1994).

En Brasil se realizaron diversos estudios genéticos (RUSSO & SOLE-CAVA, 1991; RUSSO *et al.*, 1994; MONTEIRO *et al.*, 1998). Hasta el momento ningún estudio genético había sido realizado con la especie *Bunodosoma cangicum*.

En Argentina es la primera vez que un estudio de naturaleza genética se realiza en anémonas de mar.

1.6. EL GÉNERO *Bunodosoma*

1.6.1. NÚMERO DE ESPECIES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL GÉNERO

Bunodosoma

El género *Bunodosoma* Verrill, 1899 tiene una distribución característica de aguas tropicales a templadas cálidas, siendo muy abundante en ambos lados del Océano Atlántico y en la costa pacífica del continente americano. No obstante algunos registros fueron realizados por fuera de estos límites. Las especies *B. capensis* (Lesson, 1830), *B. fallax* (Pax, 1922), *B. granuliferum* (Lesueur, 1817) y *B. goanensis* Den Hartog & Vennam, 1993 fueron citadas para el Océano Índico. DEN HARTOG & VENNAM (1993) discuten estos registros dudando de la validez de los tres primeros. De esta forma, no considerando estas citas dudosas, se conocen actualmente 11 especies del género en todo el mundo. Hasta el momento, los conocimientos sobre las especies llevan a creer que son de reproducción exclusivamente sexual, en general con sexos separados. Además de los estudios sistemáticos, solamente cuatro especies fueron blanco de investigaciones en otros campos. *B. caissarum*, endémica de Brasil, fue bien estudiada desde el punto de vista químico (MENDES, 1971, 1978; MENDES & FREITAS, 1980, 1981, 1984), como indicadora de las condiciones ambientales (MATTA, 1980; GOUVÊA *et al.*, 1985; GUIMARÃES NETO *et al.*, 1986), estudios de estructura poblacional y variación genética (RUSSO & SOLÉ-CAVA, 1991; RUSSO *et al.*, 1994), además de un detallado estudio de biología reproductiva (BELÉM, 1987). La acción del veneno de *B. cangicum* fue estudiada por LAGOS *et al.* (2001). Además, sobre las especies *B. cavernatum* y *B. granuliferum* se efectuaron algunos estudios químicos (LEBOEUF *et al.*, 1981a, 1981b;

ANEIROS *et al.*, 1983), ecológicos (PHILLIPS, 1974; KASSCHAU *et al.*, 1984), genéticos (McCOMMAS, 1982) y de biología reproductiva (CLARK & DEWEL, 1974).

1.6.2. EL GÉNERO *Bunodosoma* EN BRASIL

Solamente tres especies del género *Bunodosoma* fueron descritas para Brasil hasta el presente; la especie *B. cangicum* fue inicialmente descrita para el litoral de São Paulo (CORRÊA, 1964), y posteriormente fue registrada para casi la totalidad de la costa brasileña (ZAMPONI *et al.*, 1998). Esta es la especie más conspicua en el intermareal y en el horizonte superior del infralitoral de Brasil en cualquier playa que tenga algún substrato duro que sirva para su fijación. Recientemente fue encontrada en Uruguay (ZAMPONI *op. cit.*), ampliando así su distribución.

B. caissarum es endémica de Brasil, habiendo sido citada para el sur y sudeste del país, desde la costa de Espírito Santo hasta Rio Grande do Sul (ZAMPONI *op. cit.*). No obstante, su presencia también en el Archipiélago de Fernando de Noronha y su ausencia en el nordeste brasileño llevan a creer que tiene una distribución más limitada que *B. cangicum*. La tercera especie del género citada para aguas brasileñas es *B. granuliferum*, registrada para la costa de Espírito Santo (GROHMANN, 1998) y Piauí (PARANHOS *et al.*, 1999).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Considerando que: I) en Argentina ya había sido realizado un estudio amplio y completo sobre la variación morfológica en tres especies de anémonas de mar en tres diferentes playas, presentando como resultados la presencia de ecotipos (ver Introducción); II) que las especies estudiadas en Argentina ocupan nichos ecológicos en el intermareal similares a los nichos ecológicos ocupados por otras dos especies en Brasil; III) que en Brasil no había antecedentes de estudios de variación morfológica en anémonas de mar; IV) que las anémonas son organismos con algunos caracteres que pueden variar según las condiciones ambientales, siendo así necesarios estudios que muestren cuáles son los caracteres menos variables y de esa forma más confiables para los estudios sistemáticos; V) considerando aún que las especies brasileñas y argentinas pertenecían a géneros muy cercanos sistemáticamente dentro de la familia Actiniidae.

Fue propuesto el siguiente objetivo general para el trabajo de tesis:

La comparación morfológica y genética de algunas especies de anémonas de mar (Cnidaria, Actiniaria, Actiniidae) provenientes del litoral de Brasil y de Argentina.

Para este fin fueron seleccionadas dos especies de anémonas de mar de las estudiadas en Argentina (*Phymactis clematis* y *Aulactinia reynaudi*) y las dos especies brasileñas que más se asemejan ecológica y sistemáticamente a las argentinas (*Bunodosoma cangicum* y *Anthopleura cascaia*). Con la realización de un detallado estudio morfológico, basado en el que fue realizado anteriormente en Mar del Plata, y de un estudio genético, utilizando electroforesis de aloenzimas (estudio inédito para la Argentina) se pretendió alcanzar los siguientes objetivos específicos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) A través del estudio de la variación morfológica en las poblaciones de anémonas de mar provenientes de las playas de Pernambuco (Brasil), observar si existe la presencia de ecotipos entre las poblaciones;
- b) Comparar morfológicamente las poblaciones de *Bunodosoma cangicum* de Pernambuco con playas del sudeste brasileño (Rio de Janeiro y Espírito Santo);
- c) Comparar los resultados de los estudios de la variación morfológica en las especies brasileñas con los resultados obtenidos previamente con las especies argentinas, con el fin de identificar cuáles fueron las variables que se mostraron más estables y que tienen así un mayor peso en la sistemática del grupo;
- d) Por la comparación morfológica, analizar si existe alguna tendencia en la variación de los caracteres según las condiciones ambientales;
- e) A través de la electroforesis de aloenzimas analizar genéticamente de cada una de las poblaciones estudiadas, con el cálculo de la heterocigosis y de las identidades génicas;

- f) Observar si los estudios genéticos muestran la existencia de diferencias en las poblaciones brasileñas y si hay un respaldo genético en la formación de los ecotipos identificados previamente en las poblaciones argentinas;
- g) Comparar los resultados de los estudios genéticos con los morfológicos para analizar mejor los objetivos propuestos en los puntos b y c;
- h) Comparar genéticamente las especies de Brasil y Argentina para intentar estimar el grado de aproximación entre las mismas;

2.3. OBJETIVOS SECUNDARIOS

La propuesta inicial de plan de tesis fue modificada en parte debido a dos razones. En primer lugar la colecta de una de las especies brasileñas a ser estudiada (*Anthopleura cascaia*) se vio muy dificultada por la poca abundancia de la misma cuando fue considerado el número de ejemplares que debería ser recolectado para los estudios morfológicos y genéticos. Sobre esta base, y con la intención de no perjudicar las poblaciones brasileñas de esta especie hasta ahora endémica de Brasil, se decidió eliminar esta especie y consecuentemente la especie Argentina que serviría para la comparación (*Aulactinia reynaudi*).

El otro cambio en el proyecto inicial se dio con el inicio del estudio morfológico cuando fue observado que la especie argentina, considerada hasta entonces como *Phymactis clematis*, pertenecía en realidad al género *Bunodosoma*, el mismo de la especie brasileña y que es muy cercano al género *Phymactis* en sus características. Por esta razón, antes de proseguir con los estudios de variación morfológica y genética, fue realizado un estudio detallado de la especie desde el punto de vista sistemático para la identificación de la misma. El material resultó ser una nueva especie del género, muy similar a *Bunodosoma cangicum* y denominada como *Bunodosoma zamponianum*. Esto conllevó a cambiar un poco los estudios genéticos, ya que ahora toda la comparación sería realizada con el mismo género con dos especies y varias poblaciones de Brasil y Argentina. De esta manera, se decidió incluir en los estudios genéticos otras especies del género *Bunodosoma* que también ocurren en Brasil con fines comparativos. Como los resultados genéticos respaldaron a los morfológicos en cuanto a que se trataba de una nueva especie del género, un nuevo capítulo fue incluido a la presente tesis. El capítulo 4.1 antecede a los estudios de comparación morfológica y genética de las poblaciones y realiza una completa descripción de la nueva especie, con discusión de su posición sistemática. Por esta razón fueron adicionados los siguientes objetivos:

- a) Descripción de la especie *Bunodosoma zamponianum* con la discusión de su condición sistemática;
- b) Evaluación del grado de aproximación de la nueva especie *Bunodosoma zamponianum* con otras especies del género que ocurren en Brasil (*B. cangicum*, *B. caissarum* y *B. granuliferum*) para discutir posibles procesos vicariantes y/o de especiación.

3. METODOLOGÍA

La Tesis Doctoral se desarrolló en las siguientes instituciones: 1. Laboratorio de Biología de Cnidarios de la Estación de Investigación Costera "J. J. Nágera", Departamento de Ciencias Marinas, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina (estudios morfológicos). 2. Laboratório de Sistemática Molecular, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil (estudios genéticos).

3.1. METODOLOGÍA DE CAMPO

3.1.1. LOCALIDADES DE MUESTREO

Se describen solamente las localidades donde se recolectó material para fines de comparación morfológica o genética, ya que las condiciones ambientales pueden justificar diferencias entre las poblaciones siendo, pues, necesaria una caracterización de las zonas para una posterior discusión. Las demás localidades sólo se citarán y se proveerán sus coordenadas geográficas.

Los ejemplares para el estudio sistemático se coleccionaron en Mar del Plata (38°05'S, 57°32'W), en las playas de Punta Cantera, Acantilados (frente a la Estación de Investigación Costera "J.J. Nágera") y Escollera Norte (Figura 1).

Para los estudios de variación morfológica en la especie *Bunodosoma cangicum* se seleccionaron dos playas en la costa de Pernambuco, litoral nordeste brasileño. Estas dos localidades se utilizaron para comparación directa con los resultados de las dos playas argentinas. Las playas escogidas fueron Piedade, en la zona metropolitana de la ciudad de Recife (capital de Pernambuco) y la playa dos Carneiros en Tamandaré, ubicada a 110 km al sur de Piedade. Asimismo, se obtuvieron ejemplares de otras playas situadas más al sur de Brasil, para una comparación poblacional con el material pernambucano. De esa forma se realizaron muestreos en Búzios (Rio de Janeiro) y en Santa Cruz (Aracruz, Espírito Santo) (Figura 2).

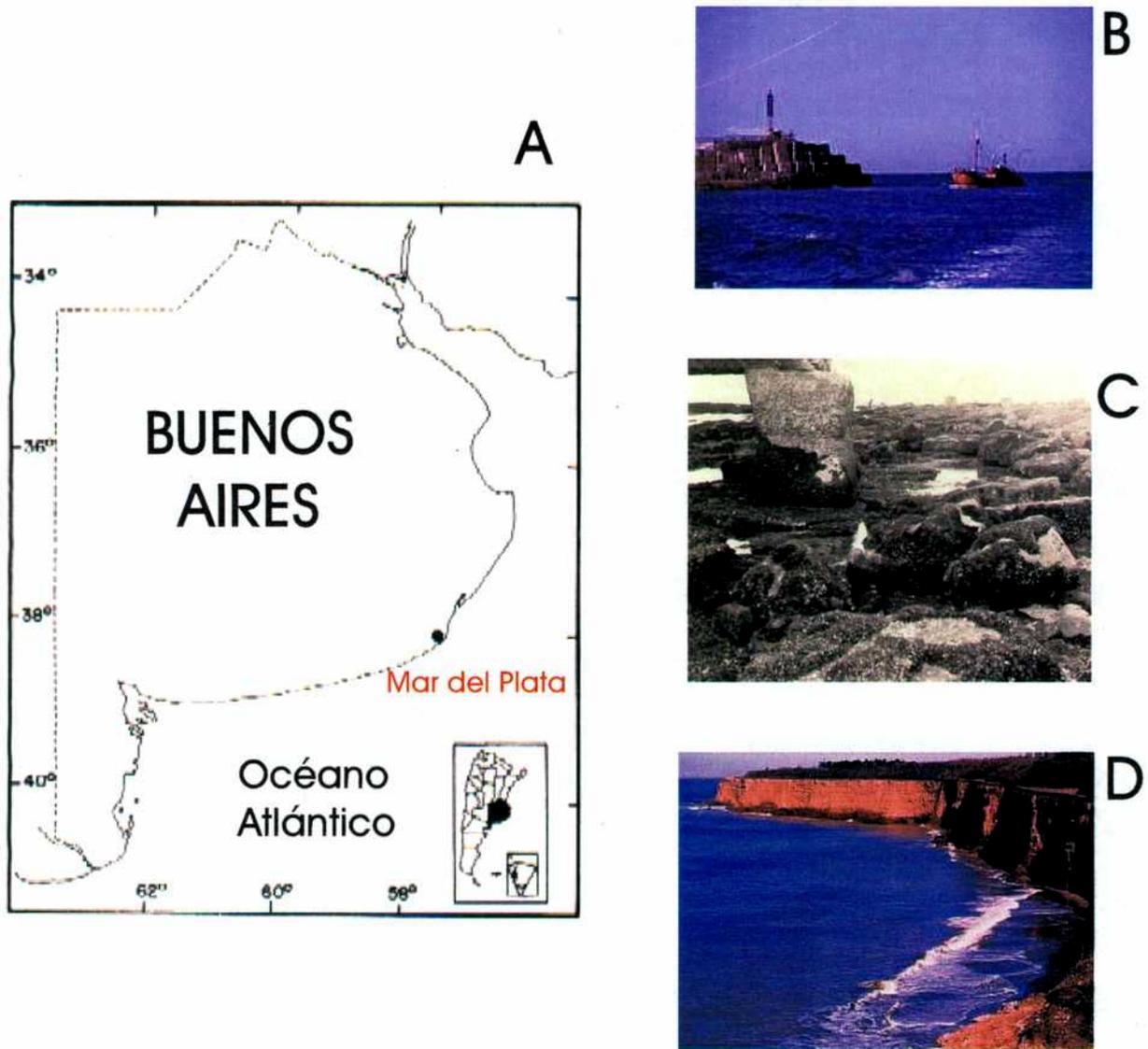


Figura 1. Localidades de muestreo de *Bunodosoma zamponianum* para el estudio sistemático. A. Mapa de la Provincia de Buenos Aires (Copiado de Zamponi & Pérez, 1996). B. Escollera Norte (Puerto de Mar del Plata) (<http://www.argenet.com.ar>). C. Playa de Punta Cantera (Foto Fabián Acuña). D. Playa de los Acantilados (Estación J.J. Nágera) (<http://www.argenet.com.ar>)



Figura 2. Localidades de muestreo de *Bunodosoma cangicum* en Brasil para los estudios de variación morfológica. ([Http://www.brasil.gov.br](http://www.brasil.gov.br))

Piedade (Figura 3a y b)

Piedade (8°10' S; 34°53' W) está localizada en la región metropolitana de la ciudad de Recife, en el Municipio de Jaboatão dos Guararapes. La playa posee las típicas formaciones de arrecifes del tipo arenito o "beach rock" (*sensu* GUILCHER, 1985), presentes en toda la costa pernambucana. Se trata de líneas de arrecifes paralelos a la costa formados por arena consolidada y detritos biogénicos, que sirven de substrato para el desarrollo de algas y corales, además de constituir una efectiva protección a la costa. El origen de estas formaciones está aún discutido, pero la mayoría de los autores considera que resultan de la cementación de antiguas líneas de playa por carbonato de calcio en la zona de anteplaya superior (Lima Filho en NASCIMENTO, 1998).

Estas formaciones quedan parcialmente expuestas durante la baja mar. Por ser una zona urbana y muy turística, los arrecifes de Piedade sufren gran impacto antrópico, por la contaminación orgánica, el tránsito de personas en los arrecifes y la colecta oportuna, por simple curiosidad, de diversos organismos bentónicos realizada por bañistas, en especial niños. Los ejemplares para el estudio fueron colectados en los arrecifes de arenito, durante la baja mar, ubicándose en lugares muy protegidos y escondidos, dificultando su localización y, principalmente, la retirada de los mismos. En estas localidades es prácticamente nula la acción de las olas sobre las anémonas. Las condiciones climáticas son muy estables en todo el litoral sur pernambucano presentando temperaturas y pluviometría similares a las que serán descriptas para el Municipio de Tamandaré.

Tamandaré (Figura 3a y c)

El material proviene de la playa dos Carneiros (8°45'S; 35°5'W), localizada en la región costera de Tamandaré, 110 km al sur de la ciudad de Recife, limitada al norte por el estuario del Río Formoso y al sur por la playa de Campas. Durante toda la extensión de la playa existe una línea arrecifal paralela a la costa que no es continua. Ésta es en la primera de las tres líneas arrecifales encontradas en la región (MAIDA & FERREIRA, 1997). Durante la baja mar los arrecifes de arenito quedan expuestos y originan diferentes microambientes para los organismos que allí habitan, inclusive para las anémonas de mar



Figura 3. Localidades de muestreo de *Bunodosoma cangicum* Pernambuco. A. Litoral del Estado de Pernambuco (<http://guianordeste.com>). B. Playa de Piedade (<http://hotel-barramares.com.br>). C. Playa de Tamandaré (<http://www.guiatamandare.com.br>)

que se localizan tanto en lugares protegidos como en pozas de marea o canaletas, y también sobre el arrecife donde quedan expuestas a la desecación. La pendiente en la playa es muy suave provocando poco impacto de las olas en el sector externo del arrecife que da hacia el mar abierto. El sector interno crea ambientes bien protegidos debido a la altura de los arrecifes (de 0,50 a 1,20 m), como pequeñas cuevas y canaletas. En esta área se encuentra el mayor número de ejemplares de anémonas de mar de la especie *Bunodosoma cangicum* (GOMES *et al.*, 1998). El clima es tropical, cálido y húmedo, con la temperatura del aire variando de 25°C a 30°C, con una media de 26°C. La estacionalidad está marcada por dos periodos distintos: uno lluvioso, de marzo a agosto, y uno seco, de septiembre a febrero. La precipitación media anual es aproximadamente de 2500 mm, siendo julio el mes mas lluvioso y diciembre el mas seco. La temperatura del agua varía desde 24°C en invierno hasta 30,5°C en verano (MOURA, 1991 y MAIDA & FERREIRA, 1997).

Búzios (Figura 4)

El Municipio de Búzios (22°45' - 22°49'S y 41°51' - 41°57'W) se encuentra al este de la bahía de Guanabara a unos 170 km de la ciudad de Rio de Janeiro. La península de Búzios posee cerca de 8 km de extensión y está bañada por las corrientes cálida de Brasil y fría de Malvinas. El microclima de la región es semi-árido caliente, que es exclusivo del sudeste brasileño. La temperatura media anual del aire es de 25°C, con una media de 29°C en verano y una mínima de 19°C en invierno. La pluviometría es muy baja debido a la fuerte y constante presencia de vientos que alejan la lluvia de la región. El periodo lluvioso es de octubre a enero y el seco entre los meses de julio y agosto. La media de lluvias es de 800 mm por año. Es muy alta la insolación, cuyo valor medio es de 2.507 horas/año, pero el viento disminuye el calor.

El material fue colectado en la playa de Tartarugas que forma una ensenada que tiene, en su sector central, una formación rocosa donde fueron encontradas las anémonas de mar. En Tartarugas el agua es cristalina, y con temperatura más elevada, en comparación con las playas de la costa suroeste de la península que, debido a la influencia de las corriente de Malvinas, poseen agua más fría.

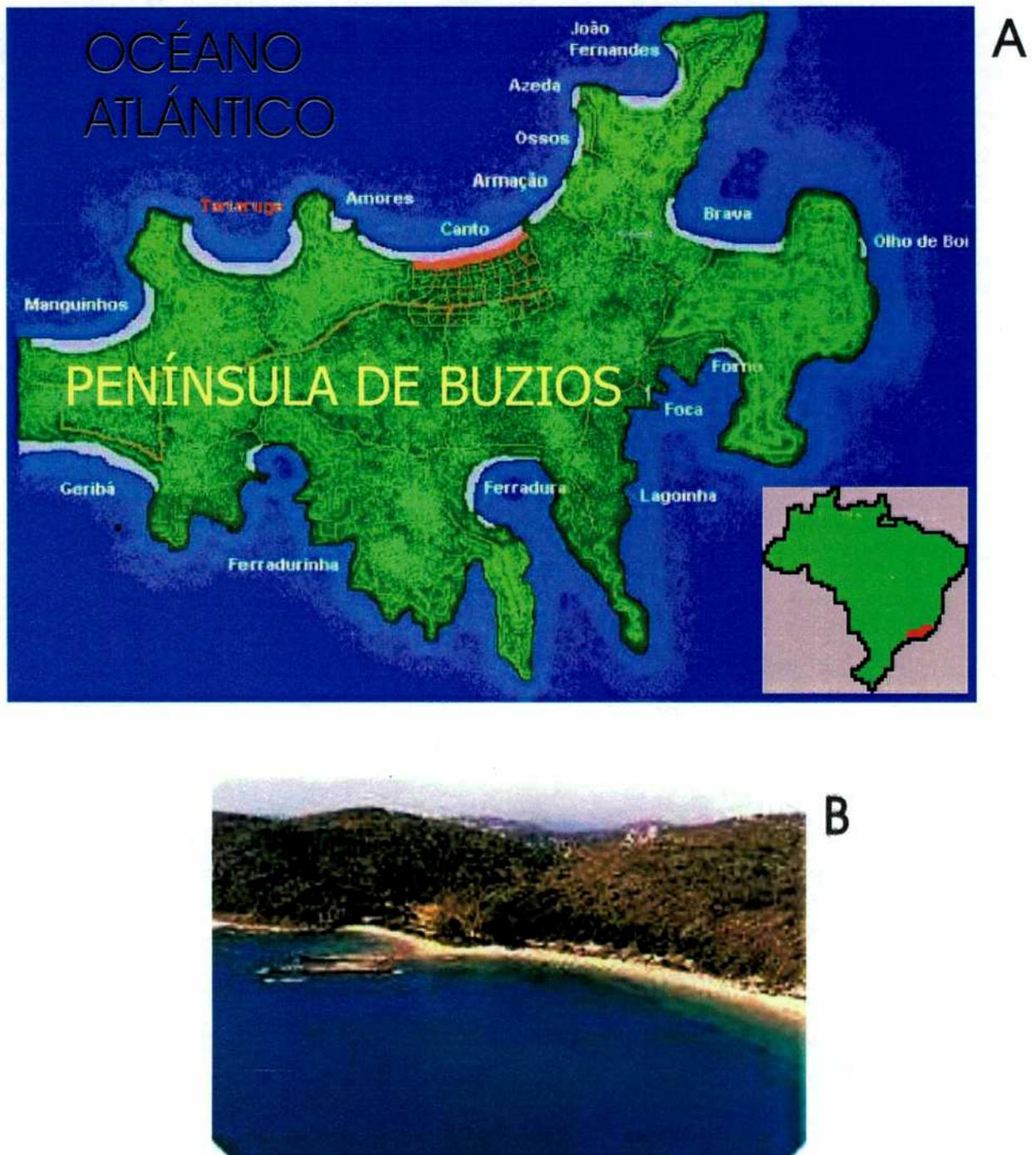


Figura 4. Localidades de muestreo de *Bunodosoma cangicum* en la Península de Buzios-RJ. A. Mapa de Buzios. B. Playa de Tartaruga

Aracruz (Figura 5)

El material se coleccionó en una ensenada entre las playas de Baleia y Laje en Santa Cruz (Aracruz, Espírito Santo) en el sudeste brasileño. El Municipio de Aracruz (19°49'S; 40°16'W) limita con los Municipios de Fundão, Ibirajú y Linhares, formando parte de la zona fisiográfica de Vitória (capital de la provincia de Espírito Santo), distando cerca de 50 km de la misma, y ubicándose al norte de Rio de Janeiro. Su litoral se caracteriza por la existencia de arrecifes de arenito ferruginoso (concreciones limolíticas), además de la presencia de manglares, sedimentos arenosos de playa y restingas. Presenta muchos madreporarios, en su mayoría muertos, y grandes poblaciones de zoantideos y algas calcáreas (BELÉM, 1976). Los cnidarios de la zona han sido bien estudiados por BELÉM, *op.cit.*; BELÉM & PRESLERCRAVO, 1973 y LONGO, 1997).

Para los estudios genéticos los ejemplares se coleccionaron en Brasil, Argentina y también en Curaçao (Figura 6). La especie *B. cangicum* se coleccionó en Brasil en las localidades de Tamandaré (PE), Aracruz (ES) y Búzios (RJ), ya descritas anteriormente. Para la Argentina se eligieron dos de las tres zonas utilizadas por PÉREZ (1992) y ACUÑA (1993) en sus estudios de las variaciones morfológicas de la especie argentina *Bunodosoma zamponianum* (considerada hasta entonces como *Phymactis clematis*). Los muestreos se realizaron en las playas que presentaron resultados más conspicuos, es decir, Santa Clara del Mar y Punta Cantera, ambas en la costa de la provincia de Buenos Aires. De esa forma sería posible una comparación de los resultados del estudio genético de la misma especie obtenidos en el presente estudio, con los estudios morfológicos descritos por PÉREZ (*op. cit.*) y ACUÑA (*op. cit.*).

Santa Clara del Mar (Figura 7a y b)

El litoral de Santa Clara del Mar (37°50'S-57°30'W) presenta un acantilado de unos 5 m de altura que se continúa en una playa con una suave pendiente que le otorga una moda calma. El substrato está constituido por rocas sedimentarias compactadas, a veces cementadas por cristales de carbonato de calcio (loess pampeano), teniendo color y dureza variables (AMOR *et al.*, 1991). Esta característica del suelo enriquece la fauna



Figura 5. Localidades de muestreo de *Bunodosoma cangicum* en Aracruz-ES. A. Mapa de la costa de Espírito Santo (Fuente: GuiaNet). B. Ensenada entre las playas de Baleia y Laje, Santa Cruz (Gentileza Suzana Pinto).



Figura 6. Localidades de muestreo de las especies de *Bunodosoma* spp. utilizadas en los estudios genéticos

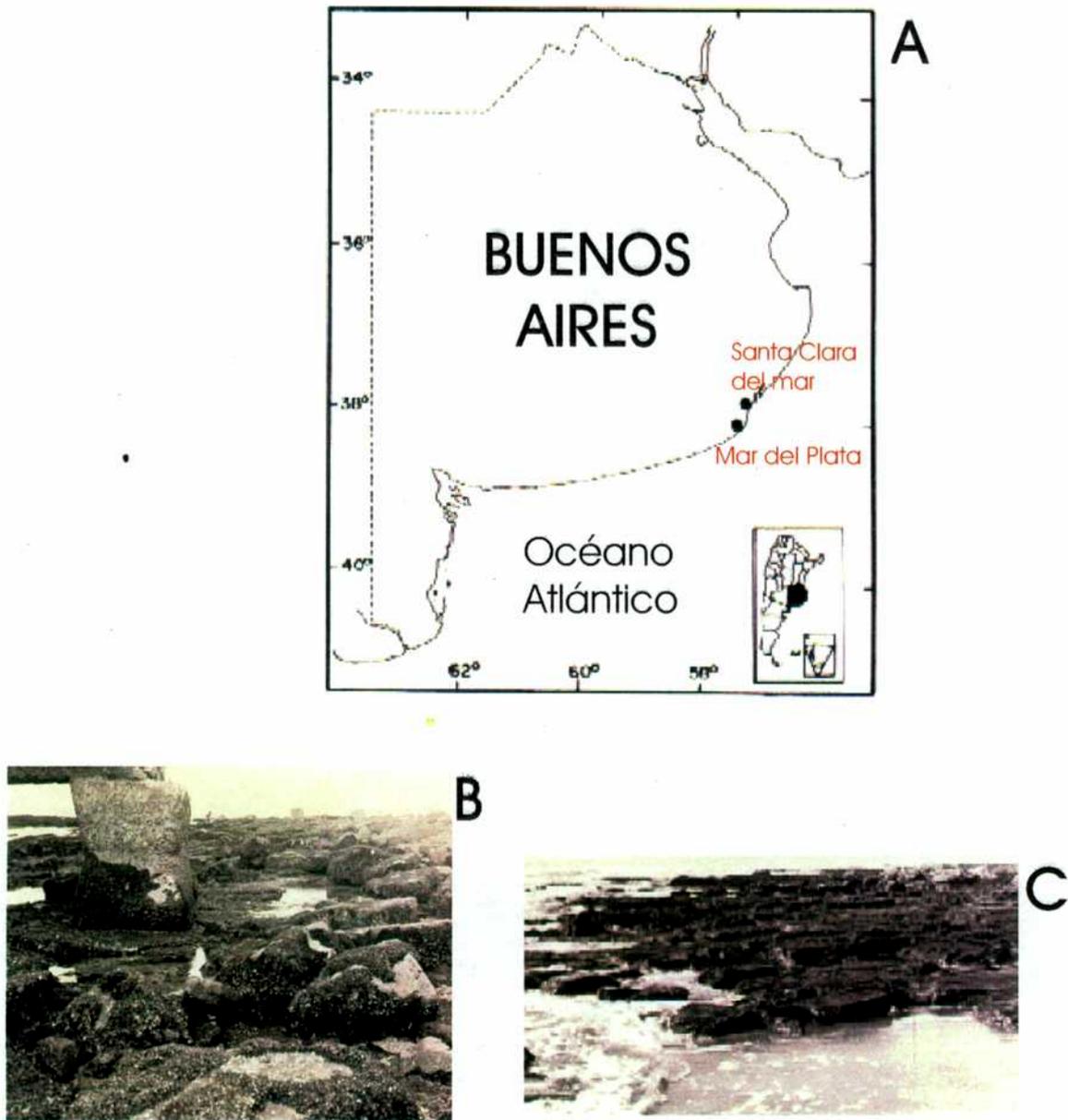


Figura 7. Localidades de muestreo de *Bunodosoma zamponianum* para los estudios genéticos. A. Mapa de la Provincia de Buenos Aires (Copiado de Zamponi & Pérez, 1996). B. Playa de Punta Cantera (Gentileza Fabián Acuña). C. Playa de Santa Clara

endolítica intermareal de esta playa; a su vez, la maleabilidad del substrato permite que el mar moldee más intensamente la roca, apareciendo gran cantidad de canales de drenaje ubicados perpendicularmente a la costa.

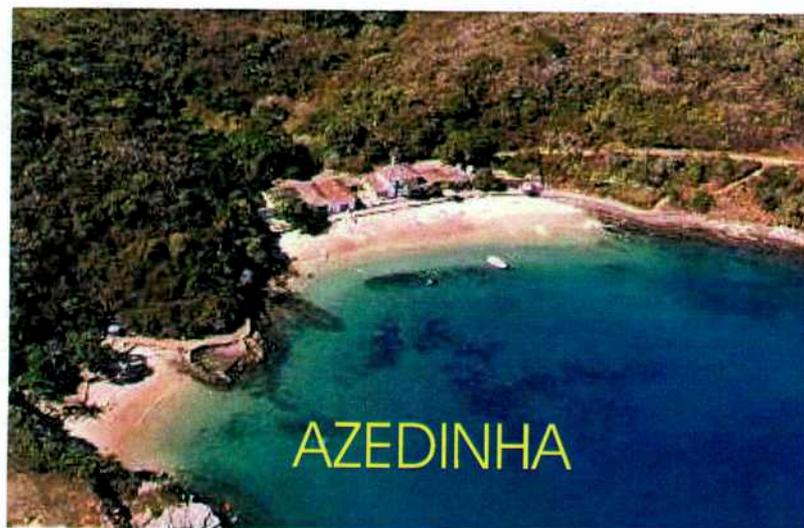
Punta Cantera (Figura 7a y c)

El litoral de Punta Cantera (38°05'S-57°32'W) presenta una extensión considerable de playa arenosa y afloramientos cuarcíticos en la zona intermareal. Este substrato es de gran dureza compuesto por rocas aisladas de tamaños variables, con ambientes expuestos y protegidos ocupados por diferentes organismos bentónicos como esponjas, cnidarios, moluscos, nemertinos, poliquetos y crustáceos (ACUÑA & ZAMPONI, 1997). La marea es agitada y el substrato más duro que el de Santa Clara del Mar (PÉREZ, 1992).

Asimismo, para una mejor comparación genética dentro del género *Bunodosoma* se utilizaron ejemplares de las especies *B. caissarum* provenientes de la playa Azedinha (Búzios, Rio de Janeiro) (Figura 8) y de la especie *B. granuliferum* de las playas de Caracas Baai (12°5'N; 60°52'W) y Boca St. Mitchiel (12°9'N; 69°00'W) en Curaçao (Figura 9).



A



B

Figura 8. Localidades de muestreo de *Bunodosoma caissarum* en Buzios-RJ. A. Mapa de Buzios. B. Playa de Azedinha. ([Http://boadapraia.com](http://boadapraia.com))

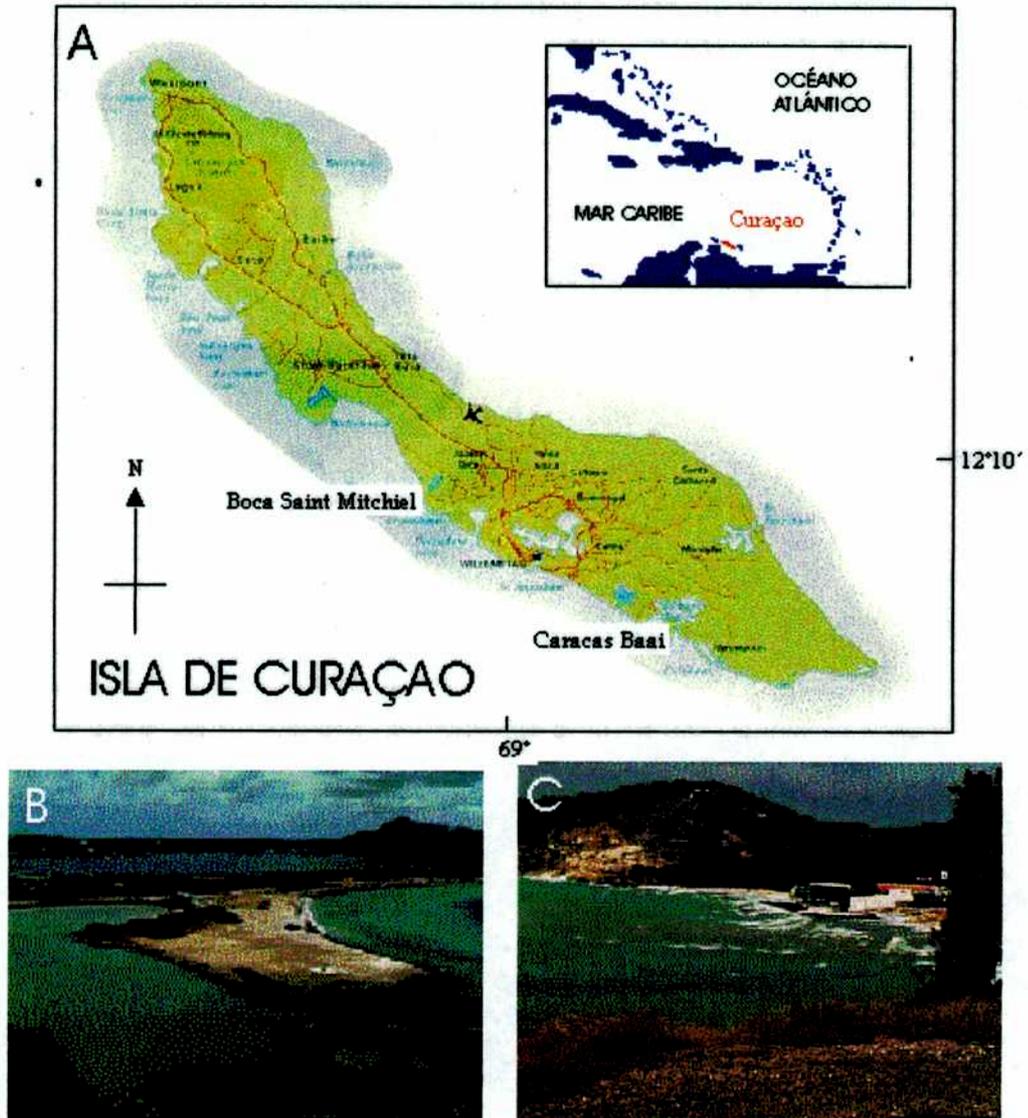


Figura 9. Localidades de muestreo de *Bunodosoma granuliferum* en la Isla de Curaçao. A. Mapa de Curaçao (<http://www.dutch-caribbean.net>). B. Playa de Caracas Baai (gentileza de Silvia y Roel Jungslager). C. Playa de Boca Saint Mitchiel (gentileza de Silvia y Roel Jungslager)

3.1.2. MUESTREO

Todo el material se coleccionó durante la baja mar, en la zona intermareal. Para la colecta fueron utilizadas espátulas, cuchillos y, en algunos casos, cincel y martillo.

En el caso del material a ser utilizado para la electroforesis de aloenzimas se tomó el cuidado de coleccionar ejemplares distantes por lo menos 2 m unos de los otros para evitar la recolección de miembros del mismo clon. El material de Curaçao fue coleccionado a 5 m uno del otro.

3.1.3. ACONDICIONAMIENTO Y TRANSPORTE

El material fue acondicionado en bolsas plásticas con agua de mar y llevado al laboratorio. Los ejemplares para los estudios morfológicos y genéticos tuvieron diferentes tratamientos.

3.2. METODOLOGÍA DE LABORATORIO

3.2.1. ESTUDIO SISTEMÁTICO DE *Bunodosoma zamponianum* n. sp.

Para la identificación de la especie argentina se realizaron estudios de macro y microanatomía. Después de la colecta, los ejemplares fueron mantenidos vivos en acuario de agua de mar con aireación, para el estudio del cnidoma. Se obtuvieron fragmentos de las siguientes estructuras: tentáculo, acrorhagus, faringe, filamento y columna. Los fragmentos se laceraron en un portaobjetos con la ayuda de dos agujas. Se adicionó saliva para inducir la explosión de los cnidocistos permitiendo una mejor identificación de los mismos. La nomenclatura para los cnidocistos estuvo de acuerdo con la clasificación propuesta por SCHMIDT (1969, 1972, 1974). La observación se realizó en microscopio con contraste de fase con objetiva de 100X y para la medición se utilizó un ocular micrométrico. Cuatro ejemplares fueron anestesiados en solución de cloruro de magnesio ($MgCl \cdot 2.6H_2O$, pm.203.31) al 7%, dos de ellos se fijaron en formol al 10% y se destinaron a los estudios de morfología externa y anatomía interna. Los otros dos

ejemplares se fijaron en Susa de Heidenhein (PANTIN, 1948) y se destinaron a los estudios histológicos. El material, después de 48 horas en fijador, sufrió un proceso de deshidratación, y luego fue entacado. Los tacos se prepararon con parafina y paraplast. Las coloraciones se realizaron con Hematoxolina de Harris-Eosina acuosa. Otros dos ejemplares colectados en la Escollera Norte en el Puerto de Mar del Plata fueron provistos por la Dra. Adriana Excoffon. Además, para la comparación con la nueva especie, se estudiaron todas las especies del género ya citadas para Brasil ya que serían las geográficamente más cercanas, debido a que en Uruguay sólo está registrada la especie *B. cangicum* (ZAMPONI *et al.*, 1998) y en la costa oeste de América del Sur no hay registros del género. En la Tabla I se presentan las especies utilizadas en los estudios sistemáticos, con todos sus datos de muestreo. Asimismo, los datos morfológicos fueron corroborados por el estudio genético. A través de la electroforesis de aloenzimas se comparó la especie *B. zamponianum* con otras especies del género presentes en Brasil. La metodología utilizada en esta etapa del trabajo está descripta en los puntos 3.3.2.2. y 3.3.2.3. que tratan de la fijación y conservación del material y de la electroforesis de aloenzimas

Tabla I: Ejemplares del género *Bunodosoma* utilizados en el estudio sistemático.

ESPECIE	LUGAR	FECHA	N	COLECTORES
<i>Bunodosoma zamponianum</i>	Punta Cantera	08-07-1999	04	Gomes, P.B.
<i>Bunodosoma caissarum</i>	Búzios	12-12-1999	04	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Búzios	19-12-1999	06	Pinto, S.; Longo, L. y Neves, E.
<i>Bunodosoma granuliferum</i>	Curaçao	Octubre-1999	01	Debrot, A.O.

3.2.2. MATERIAL PARA COMPARACIÓN MORFOLÓGICA

3.2.2.1. Lista del material estudiado

La especie elegida en Brasil para la realización de los estudios morfológicos fue *Bunodosoma cangicum* (Figura 10). Eso se debió al hecho de que esta especie, tan común en el litoral brasileño, resultara muy similar morfológicamente a la especie argentina, ya bien estudiada en el aspecto morfológico (ZAMPONI, 1977; ACUÑA & ZAMPONI,

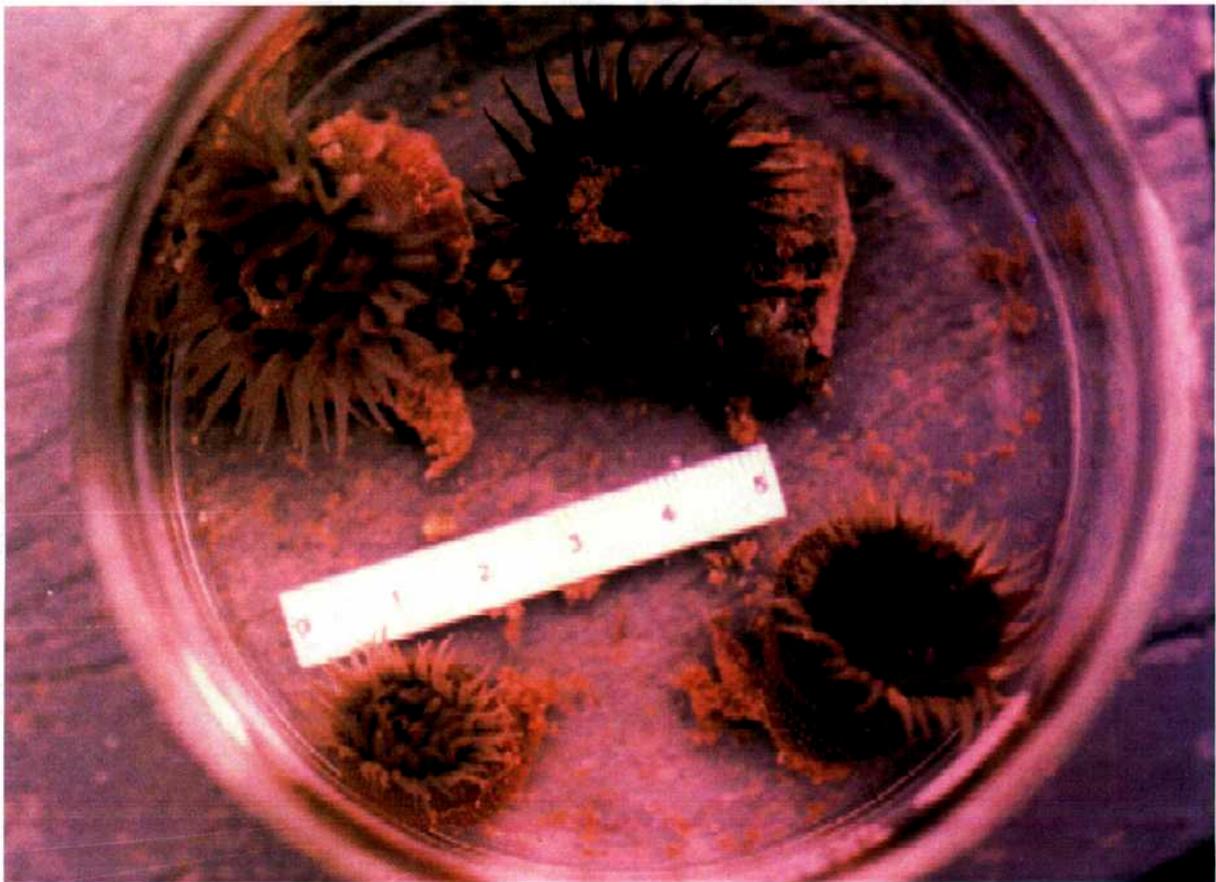


Figura 10. *Bunodosoma cangicum*. Aspecto Externo (Gentileza Suzana Pinto)

1995, 1996 y ZAMPONI & PÉREZ, 1996). Además, aquella especie ocupa en Brasil el mismo nicho ecológico que *Bunodosoma zamponiamum* en Argentina. En la Tabla II se presentan las especies utilizadas en los estudios morfológicos, con todos sus datos de muestreo.

Tabla II: Ejemplares del género *Bunodosoma* utilizados en el estudio morfológico.

ESPECIE	LUGAR	FECHA	N	COLECTORES
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Tamandaré	26-01-1997	08	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Tamandaré	14-02-1998	10	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Tamandaré	07-08-1998	03	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Tamandaré	20-12-1998	04	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Tamandaré	05-01-1999	05	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Piedade	08-01-1997	06	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Piedade	16-02-1998	11	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Piedade	02-01-1999	17	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Aracruz	19-08-1998	07	Pinto, S.M. y Carro, A.L.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Búzios	19-11-1999	12	Pinto, S.; Longo, L. y Neves, E.

3.2.2.2. Anestesia y fijación

El material para fines morfológicos se anestesió en una solución de cloruro de magnesio preparada con 20 mg de cloruro de magnesio disuelto en 250 cm³ de agua dulce y 250 cm³ de agua de mar. La fijación se realizó en solución de formol al 10%.

3.2.2.3. Análisis cuantitativos de los caracteres morfológicos

Para el presente estudio sólo se utilizaron los caracteres que, en los estudios previos realizados en Argentina, demostraron tener alguna importancia en cuanto a la variación morfológica entre las poblaciones por causas ajenas a las metodológicas. De esta manera no fue tomada, por ejemplo, la distancia entre las vesículas en la columna pues este

carácter pareció variar según el grado de contracción del animal (ver ítem 1.4.3. de la Introducción)

El siguiente procedimiento se realizó para cada ejemplar en todas las especies estudiadas (los caracteres están citados en el mismo orden en que fueron analizados):

1- Talla de los individuos

La forma del cuerpo de las anémonas de mar sufre gran variación según la localización de los ejemplares en el campo y, principalmente, varía si los mismos se encuentran cubiertos por agua o expuestos. Por esta razón la medición de los ejemplares en campo resulta difícil y poco precisa. En una tentativa de estandarizar las medidas para permitir una posterior comparación en el ámbito poblacional, se optó por realizar las mediciones con el material ya fijado. Este procedimiento tampoco es muy preciso, pero el hecho de que todas las anémonas fueron anestesiadas previamente y fijadas solamente cuando se encontraban en total estado de relajación, disminuye los errores y uniformiza cualquier imprecisión, permitiendo uno de los objetivos de esta tesis, que es la comparación entre las poblaciones. Se midieron la altura de la columna, y el diámetro del disco basal y del disco oral mediante el promedio de los diámetros opuestos. Para las mediciones fue utilizada una regla.

2- Número de vesículas

Se contaron el número de filas de vesículas y el número de vesículas presentes en cada fila, con el uso de un estereomicroscopio. A partir de esos datos se calculó el número total de vesículas en cada ejemplar. Se siguió la metodología propuesta por ACUÑA *et al.* (1996).

3- Peso húmedo

CHINTIROGLOU & SIMSIRIDOU (1997) demostraron que el peso húmedo en las anémonas de mar era el parámetro más significativo y que mejor se relaciona con otros, como altura y diámetro. Por esta razón, este parámetro también se utilizó para estimar el tamaño de los individuos. Cada ejemplar se cortó transversalmente y cada mitad se secó con papel absorbente, posteriormente se realizaron los pesajes de las dos mitades para registrar el peso del individuo. El peso se registró antes de que el material sufriera cualquier manipulación para análisis de otros caracteres internos para evitar que se perdiera material

como filamentos o gónadas. Siempre que se encontró algún residuo alimenticio que pudiera interferir en el peso real del individuo, como valvas de moluscos, espinas de erizos o grandes agregaciones de arena, se retiró con auxilio de una pinza antes del pesaje.

4- Número y ciclos de mesenterios

Para la observación de los ciclos de mesenterios, los ejemplares se cortaron transversalmente en la mitad de la columna, y se observaron bajo microscopio estereoscópico. Se determinó el número de ciclos de mesenterios y el número total de los mismos.

5- Número, ciclos y tamaño de los *acrorhagi*

Se observó bajo estereomicroscopio el número de ciclos de *acrorhagi* presente en cada ejemplar. Posteriormente se contó el número de *acrorhagi* presente en los ciclos. Debido a la ausencia en muchos ejemplares del segundo ciclo, se decidió considerar para la comparación solamente el número presente en el primer ciclo. Para el cálculo del tamaño, se midieron 5 *acrorhagi* del primer ciclo, de forma aleatoria. Se midió el diámetro de los mismos con el uso de un ocular micrométrico acoplado a un microscopio estereoscópico. En el caso de los *acrorhagi* que no se mostraron bien esféricos, se realizó el cálculo de la media de los diámetros opuestos.

6- Número y ciclos de tentáculos

Cada ejemplar se observó bajo microscopio estereoscópico para el conteo del número de tentáculos y el número de ciclos de los mismos.

7- Largo y ancho del esfínter

El esfínter se observó a través de un corte longitudinal realizado en la mitad superior de las anémonas previamente cortadas para la observación de los mesenterios. La medición del largo y del ancho de los esfínteres se realizó utilizando un ocular micrométrico acoplado a un microscopio estereoscópico.

8- Cnidoma

Se realizaron preparados de cnidocistos para la medición del largo y ancho de los mismos. Los preparados se realizaron retirando un trozo de tejido de la zona a ser estudiada. El tejido se cortó con agujas sobre un portaobjetos, se le adicionó agua destilada y se colocó el cubreobjetos, realizando una leve presión con el pulgar sobre éste (squash). Los preparados se llevaron a un microscopio con ocular micrométrico para las mediciones. Se midieron 20 cápsulas no evaginadas de cada tipo de cnidocisto en cada estructura elegida, para cada ejemplar analizado. Todas las medidas se tomaron con objetiva de inmersión. Además de utilizar las medidas del largo y ancho de las cápsulas, también se utilizó la relación largo/ancho para comparar las poblaciones, con el fin de comprobar si esta era la medida más independiente de otros factores como edad y tamaño del individuo, como así lo proponen CHINTIROGLOU & SIMSIRIDOU (1997).

Para la elección de los tipos de cnidocistos y de las estructuras utilizadas se tomaron en cuenta trabajos anteriormente realizados en el tema. ZAMPONI & ACUÑA (1991) encontraron que los espirocistos poseían una mayor variación en el rango de sus tallas que los microbásicos p y b mastigóforos. Los espirocistos, juntamente con los microbásicos b-mastigóforos actúan en la captura de la presa y pueden variar según las condiciones ambientales. ACUÑA & ZAMPONI (1997) demostraron que los b-mastigóforos de los tentáculos de las especies *Bunodosoma zamponianum* (= *Phymactis clematis*) y *Aulactinia reynaudi* sirvieron para discriminar razas ecológicas. Los mismos autores citan que los atricos de los acrorhagi sirven para la diferenciación de razas en la especie *Oulactis muscosa*. Por otro lado, estudios realizados por CHINTIROGLOU & SIMSIRIDOU (1997) con la especie *Actinia equina mediterranea* forma I Schmidt, 1971, citaron el b-rabdoide (=microbásico b-mastigóforo) de faringe como el más estable e independiente de la talla, edad y otros factores, pudiendo ser un excelente indicador de poblaciones genéticas. Sobre la base de todo lo expuesto, se seleccionaron los siguiente cnidocistos para el presente estudio:

- B. cangicum*- b-rabdoide de faringe
 - holotrico de acrohagus
 - b-rabdoide de tentáculo
 - espirocisto de tentáculo

Además, fue verificado el estado sexual de los organismos. Para esto los ejemplares fueron observados bajo estereomicroscopio. En los ejemplares que presentaban gónadas, se retiró una porción de éstas que fue macerada en un porta y llevada para observación en microscopio óptico. Los estados sexuales se clasificaron de la siguiente forma: estéril, para representar al individuo en el cual no se encontraron gónadas; inmaduro, para representar al individuo con gónadas pero cuyo sexo no pudo ser definido con seguridad debido al poco desarrollo gonadal; femenino, para los individuos con gónadas femeninas; y masculino, para individuos con gónadas masculinas.

3.2.3. MATERIAL PARA ESTUDIOS GENÉTICOS

3.2.3.1. Lista del material utilizado

En la Tabla III se presentan las especies utilizadas en los estudios genéticos, con sus respectivos datos de muestreo.

Tabla III: Ejemplares del género *Bunodosoma* utilizados en el estudio genético.

ESPECIE	LUGAR	FECHA	N	COLECTORES
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Búzios	19-11-1999	16	Pinto. S.; Longo, L. y Neves, E.
<i>Bunodosoma caissarum</i>	Búzios	12-12-1999	04	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma caissarum</i>	Búzios	19-12-1999	06	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma granuliferum</i>	Curaçao	Octubre-1999	19	Debrot, A.O.
<i>Bunodosoma cangicum</i>	Tamandaré	14-01-1999	21	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma zamponianum</i>	Santa Clara	06-12-1998	21	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.
<i>Bunodosoma zamponianum</i>	Punta Cantera	08-12-1998	21	Gomes, P.B. y Pérez, C.D.

3.2.3.2. Fijación y conservación

El material destinado a la electroforesis de aloenzimas se sometió a diferentes tratamientos desde su llegada al laboratorio hasta su utilización.

Los ejemplares de la especie *Bunodosoma zamponianum* provenientes de Punta Cantera y Santa Clara del Mar se llevaron al Laboratorio de Biología de Cnidarios (Depto. de Ciencias Marinas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata). En el mismo día del muestreo se realizó un corte para extraer un trozo de la porción superior de la columna. Se eligió este sector por concentrarse allí una mayor cantidad de enzimas debido a la presencia de la faringe. Los trozos se acondicionaron en frascos especiales y se conservaron en una garrafa con nitrógeno líquido hasta su transporte a la ciudad del Rio de Janeiro. Para el viaje los ejemplares se transfirieron a un recipiente de poliuretano expandido con hielo seco y lacrado. El material se llevó al Laboratório de Sistemática Molecular de la Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), donde se mantuvo en nitrógeno líquido hasta la realización de la electroforesis.

El material de *Bunodosoma cangicum*, colectado en Tamandaré, se llevó a Laboratório de Macro e Megabentos (Depto. de Zoologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco) donde se siguió el mismo procedimiento citado para *Bunodosoma zamponianum*: extracción de una porción, fijación en nitrógeno líquido y transporte en hielo seco.

En el caso del material proveniente de las playas de Búzios, éste se mantuvo vivo en acuario de agua de mar con aireación y filtro biológico en el Laboratório de Sistemática Molecular (UFRJ) hasta su utilización en la electroforesis. Después de la extracción de un trozo de cada ejemplar para el estudio genético, el material se dejó en recuperación por tres días en acuario, y posteriormente se procedió a la anestesia y fijación del material destinado a los estudios morfológicos.

La especie *Bunodosoma granuliferum*, colectada en Curaçao, fue enviada viva al Laboratório de Sistemática Molecular (UFRJ) donde se realizó el procedimiento de fijación de una porción de cada ejemplar en nitrógeno líquido hasta el momento de la electroforesis. Un ejemplar de ese material se anestesió con cloruro de magnesio y se fijó en formol al 10%, para uso en el estudio morfológico.

3.2.3.3. Electroforesis de aloenzimas

Para la realización de la electroforesis, los fragmentos se maceraron en placas con

bastones de acrílico específicas para este fin, utilizando solución fría de 0,1% NAPD en 0,02M Tris-HCl (pH 8,0). Después de la homogenización, tiras de papel de filtro cortadas a un tamaño uniforme fueron embebidas en el homogenato y posteriormente aplicadas en un gel de almidón 13% hidrolizado, con 8 mm de espesor. La electroforesis se realizó a una corriente constante de 3,5 W durante 6 a 8 horas usando como sistema tampón 0.25M Tris, 0.06M Citrato, pH 8.0 ("TC8"; WARD & BEARDMORE, 1977). Fueron testeadas coloraciones para 24 enzimas, de las cuales 17 generaron resultados reproducibles. La tabla IV muestra los sistemas enzimáticos testeados, con sus números en la Comisión Internacional de Enzimas y sus abreviaturas. La elección del sistema tampón y de los sistemas enzimáticos a ser utilizados se basaron sobre los estudios previos utilizando electroforesis de aloenzimas realizados con la especie *Bunodosoma caissarum* (RUSSO & SOLÉ-CAVA, 1991 y RUSSO *et al.*, 1994).

Tabla IV. *Bunodosoma* spp. Enzimas estudiadas, sus números en la Comisión de Enzimas (E.C.) y Abreviaturas.

Enzimas	E.C.	Abrev
Acido fosfatasa	3.1.3.2	Acp
Adenilato quinasa	2.7.4.3	Ak
Catalasa	1.11.1.6	Cat
Esterasa	3.1.1.1	Est
Glutamato deshidrogenasa	1.4.1.3	Gdh
Glutamato oxaloacetato transaminasa	2.6.1.1	Got
Hexoquinasa	2.7.1.1	Hk
Isocitrato deshidrogenasa	1.1.1.42	Idh
Malato deshidrogenasa	1.1.1.37	Mdh
Enzima Málica	1.1.1.40	Me
Manosa 6-fosfato isomerasa	5.3.1.8	Mpi
Octopina deshidrogenasa	1.5.1.11	Odh
Peptidasas (PRO-PHE)	3.4.1.1	Pep
Fosfogluconato deshidrogenasa	1.1.4.4	Pgd
Fosfoglucosa isomerasa	5.3.1.9	Pgi
Fosfoglucomutasa	2.7.5.1	Pgm
Superoxido dismutasa	1.15.1.1	Sod

3.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS

3.3.1. ANÁLISIS DE LOS DATOS MORFOLÓGICOS

En los análisis estadísticos se utilizó el Programa SPSS 9.0. Para cada variable estudiada se calculó la media, desvío estándar y moda en cada localidad y en general. Se construyeron gráficos del tipo “High-low” mostrando los valores mínimos, máximos y las medias de los caracteres en todas las localidades.

El valor que ocurre con mayor frecuencia en la especie, para algunos caracteres como número de tentáculos, número de *acrorhagi* y número de mesenterios es el normalmente utilizado en la descripción y caracterización sistemática de ésta. Por esta razón, también se construyeron gráficos de barras comparando las modas en las cuatro poblaciones estudiadas.

Fue testada la normalidad de la distribución de todos los datos morfológicos. Algunos de ellos no presentaban una distribución normal. No se intentó transformar los datos optando por el uso de tests estadísticos no paramétricos debido al pequeño número de ejemplares estudiados en algunas poblaciones. Solamente para la talla de los cnidocistos fue utilizado un test paramétrico, ya que WILLIAMS (1996) comprobó que estas medidas tienen una distribución normal. El test aplicado para comparar las medias de la talla de los cnidocistos fue el ANOVA (SOKAL & ROHLF, 1995).

El estado sexual fue la única variable de tipo cualitativa utilizada, por esta razón fue analizada separadamente. El objetivo de los análisis no fue realizar un estudio reproductivo de las especies, sino averiguar si el estado reproductivo y/o sexual pueden estar influyendo en los demás datos. De esta forma se construyó una tabla que muestra las frecuencias de los estados sexuales en cada una de las localidades. La misma fue representada a través de un gráfico de barras. Con el objetivo de evaluar si alguno de los caracteres varía de forma dependiente con otro u otros, se utilizó la Correlación de Pearson (SOKAL & ROHLF, 1995). Esta correlación expresa la relación concomitante entre dos o más variables. Si dos variables varían concomitantemente, se dice que están correlacionadas. El coeficiente varía de -1 a $+1$, pudiendo indicar una correlación positiva o negativa entre las variables. Se consideró que las variables estaban bien relacionadas cuando el valor (r) encontrado era igual o mayor que $0,70$, que es

normalmente considerado significativo en este tipo de análisis, ya que resulta en un valor del coeficiente de determinación (r^2) de aproximadamente 0,50. Esto significa que cerca de 50% de la variabilidad de un carácter puede ser atribuida o asociada al otro (ZAR, 1996). Este test se aplicó a todas las variables con excepción del estado sexual que, por ser una variable cualitativa, necesita de otro tipo de test de correlación. Para evaluar si el estado sexual puede estar interfiriendo en los valores de los otros caracteres, éste fue utilizado como una variable dicotómica (presencia y ausencia de gónadas). Para testear la correlación entre ésta y las demás variables fue calculado el Coeficiente de Correlación Biserial de Puntos (r_{bp}). Este coeficiente es utilizado para variables dicotómicas que no presentan continuidad ni normalidad y sus valores y interpretación son similares al del Coeficiente de Pearson (NICK & KELLNER, 1971).

3.3.2. COMPARACIÓN MORFOLÓGICA ENTRE LAS POBLACIONES

Para evaluar cuales caracteres eran más estables y/o variables en las poblaciones fue utilizado el test H de Kruskal-Wallis (KRUSKAL-WALLIS, 1952) con un nivel de significancia de 0,05. Este test es una generalización del test U de Mann-Whitney y puede evaluar si las diferentes muestras provienen de una misma población. Es un método no paramétrico para el análisis de la varianza para clasificación de un criterio o experimentos con un factor, pudiéndose realizar generalizaciones (CONOVER, 1980). El nivel de confiabilidad de este test es del orden del 95%, siendo el mismo tan potente como el test F, que es el test paramétrico más potente para el análisis de la varianza (ZAR, 1996). Este test fue primeramente utilizado para comparar cada uno de los caracteres estudiados en las cuatro localidades, testeando las siguientes hipótesis:

H_0 : las medidas tienen la misma media en las cuatro localidades

H_1 : las medidas no tienen la misma media en las cuatro localidades

Después de identificados los caracteres que rechazaban la hipótesis nula ($p < 0,05$), se utilizó un test que es una extensión del Kruskal-Wallis, con el objetivo de identificar cuál localidad tenía la media diferente de las demás. Este test fue elegido en lugar de otros contrastes más comúnmente usados como el de Tukey por ser el más indicado en este caso, ya que el número de muestras no es el mismo en todas las poblaciones (ZAR,

1996). Se construyeron gráficos de barra para la visualización de las diferencias entre las medias de estos caracteres para las cuatro localidades.

3.3.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS DE ALOENZIMAS

A partir de las frecuencias genotípicas se calcularon las frecuencias génicas. Además, para todas las poblaciones estudiadas, se hicieron estimaciones de la variabilidad intrapoblacional como: heterocigosis media (observada y esperada) y grado de polimorfismo.

3.3.4. COMPARACIÓN GENÉTICA ENTRE LAS POBLACIONES

Los índices de la variación interpoblacional usados fueron la identidad y distancia génicas (NEI, 1978), obtenidos por las frecuencias génicas. Se construyó un dendrograma de identidad para todas las especies por los métodos de UPGMA (SNEATH & SOKAL, 1973). Todos los cálculos se realizaron con el programa BIOSYS-1 (SWOFFORD & SELANDER, 1981).

4. RESULTADOS

4.1. DESCRIPCIÓN DE *Bunodosoma zamponianum* n. sp.

Orden Actiniaria Carlgren, 1949

Familia Actiniidae Goldfuss, 1820

Bunodosoma Verrill, 1899

Bunodosoma Verrill, 1899: 44-45; Carlgren, 1949: 51; Corrêa, 1964: 58-59; Belém, 1988: 366.

Especie tipo: *Bunodosoma granuliferum* (Lesueur, 1817).

Actiniidae con disco pedal bien desarrollado; toda o casi toda la columna cubierta con vesículas esféricas y uniformes, con baterías de nematocistos de mediano tamaño; *acrorhagi* en la fosa raramente ausentes, con un gran número de holotricos, también espirocistos y b-rabdoides; esfínter bien desarrollado, más o menos circunscripto; tentáculos y mesenterios dispuestos hexámericamente; generalmente dos sifonoglifos y dos pares de mesenterios directivos; raramente varios sifonoglifos no asociados a directivos; pares de mesenterios perfectos generalmente numerosos; todos los mesenterios perfectos fértiles (excepto los directivos en algunas especies).

Cnidoma: espirocistos, holotricos, b-rabdoides, p-rabdoides A, p-rabdoides B1a.

Bunodosoma zamponianum n. sp.

(Figura 11)

Phymactis clematis; Zamponi, 1977: 139-141; *non Phymactis clematis* Dana, 1849: 1.

Material- Mar del Plata (38°05'S; 55°32'W): Punta Cantera (4 ejemplares, 16-IX-99, uno de ellos fue destinado a los estudios histológicos); Acantilados (4 ejemplares colectados frente a la Estación Costera "J.J. Nágera", 24-XI-99); Escollera Norte (2 ejemplares, 14-XI-99, Excoffon col.).

Holotipo- Punta Cantera, 16-IX-99, Gomes col., a ser depositado en el Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia".

Paratipos- Dos ejemplares, Punta Cantera, 16-IX-99, Gomes col., serán depositados en la Colección de Actiniarios, Laboratorio de Biología de Cnidarios, Universidad Nacional de Mar del Plata (Argentina); y en la Colección de Actiniarios, Laboratório de Macro e Megabentos, Universidade Federal de Pernambuco (Brasil).

Etimología- El nombre de la especie es un homenaje al gran investigador en anémonas de mar de la Argentina, el Dr. Mauricio O. Zamponi.

Material examinado para comparación- *Bunodosoma cangicum* (BRASIL: Pernambuco, ejemplares de las playas de Piedade y Tamandaré; *Bunodosoma caissarum* (BRASIL: Rio de Janeiro, ejemplares de la playa Azedinha, Búzios; *Bunodosoma gramuliferum* (CURAÇAO: Caracas baai).

Descripción

Base: circular, adherente, bien desarrollada. *In situ*, los ejemplares pueden tener la base bien expandida, con su diámetro mayor que el de la columna. Coloración crema, a veces con líneas color de naranja o pardas, radialmente distribuidas. Diámetro varía *in situ* de 1,4 a 3,8 cm.

Columna: cilíndrica, capaz de gran elongación, con un parapeto originando una fosa en la región distal. Durante la baja mar, los animales ubicados fuera del agua se encuentran con sus tentáculos y parapeto retraídos, asumiendo la forma de domo. La columna está recubierta en su totalidad por vesículas no adhesivas. En algunos ejemplares es posible distinguir hileras longitudinales en número de 90 a 100, dispuestas alternadamente en las paredes del exo y

endocele. De esta forma, en ejemplares regularmente hexámeros, se encuentran 96 hileras de vesículas distribuidas desde la base hasta el parapeto. No obstante, según el estado de contracción del animal, la disposición de las vesículas puede no ser muy clara. En organismos contraídos, éstas pueden aparentar una distribución aleatoria. Son estructuras simples en casi la totalidad de la columna, siendo menos desarrolladas cerca del disco pedal y pueden ser compuestas solamente en el margen, donde llegan a ser triples o quintuples. Estas vesículas compuestas forman proyecciones marginales, que se alternan en dos tamaños en el parapeto de la columna, lo que puede dar un aspecto lobulado a su porción apical. En la faz interna de cada proyección se ubica un *acroghagus* orientado hacia la fosa que se forma entre el parapeto y la corona de tentáculos. Los *acrorhagi* son simples, globosos, de coloración crema casi blanquecina, y se disponen en dos ciclos alternados con 48 *acrorhagi* cada uno. El ciclo externo tiene los *acrorhagi* endocélicos y mayores (media de 1,1 cm de diámetro), alternándose con el ciclo más externo de tentáculos. En el otro ciclo, los *acrorhagi* son exocélicos y menores (media de 0,75 cm de diámetro) y se disponen entre los tentáculos del último ciclo. En muchos ejemplares el ciclo menor está ausente, y en algunos casos el número de *acrorhagi* no es constante, pudiendo faltar en todo un sector del margen. La columna presenta distintos colores. En algunos ejemplares es color de naranja claro o de crema, con vesículas gris plomo o más oscuras. Otros ejemplares tienen la columna color de naranja oscuro con vesículas verde oliva o de aspecto general pardusco. A veces presentan líneas verticales color de naranja que coinciden con las inserciones mesenteriales. La altura varía *in situ* de 3 a 6 cm. El diámetro del medio de la columna varía *in situ* de 2,5 a 4,5 cm. Estas medidas son muy inconstantes según la ubicación de los ejemplares y son diferentes en los organismos fijados en formol.

Disco oral: liso, de coloración pardusca, a veces con líneas color de crema o anaranjadas radialmente dispuestas coincidiendo con las inserciones mesenteriales. Estas líneas empiezan en el peristoma y siguen en dirección a los tentáculos, delimitando bandas que terminan sucesivamente en el punto de inserción de cada tentáculo, siguiendo el ordenamiento de los ciclos. Boca circular, a veces con peristoma un poco elevado, en general con dos sifonoglifos. En ejemplares distendidos el disco oral tiene, normalmente, diámetro mayor que el disco pedal. Diámetro del disco oral varía de 2 a 5 cm *in situ*.

Tentáculos: simples, filiformes, lisos y retráctiles. En los especímenes hexámericamente regulares se disponen en 5 ciclos: $6+6+12+24+48=96$. No obstante, puede haber irregularidades en su disposición y en número, que puede ser de 96 a 102. El ciclo más externo es exocélico y se alterna con el ciclo más externo y mayor de los *acrorhagi*. La coloración es uniforme en toda la extensión del tentáculo, pudiendo ser pardo claro u oscuro, siendo a veces color de vino. En ejemplares fijados pueden formarse surcos longitudinales en los tentáculos. No se encontraron otras estructuras o manchas circulares en los tentáculos de los ejemplares estudiados. Son prácticamente del mismo tamaño en todos los ciclos. Largo de 1,5 a 2,5 cm.

Mesenterios y anatomía interna: La actinofaringe es larga, con numerosos pliegues. Los sifonoglifos se extienden un poco más allá de la faringe. El número de mesenterios es constante proximal y distalmente. En especímenes regularmente hexámeros hay 48 pares de mesenterios dispuestos en 4 ciclos ($6+6+12+24$). Este número puede diferir entre 46 y 52 pares. Todos los ciclos están formados por mesenterios perfectos. Los del cuarto ciclo sólo están unidos a la faringe en la parte distal de la columna, por debajo del disco oral. Cerca de la base de la columna todos los mesenterios se unen formando un nódulo basal. Los mesenterios del tercero, segundo y primer ciclos se desprenden de la faringe a niveles progresivamente más inferiores. En todos los ejemplares estudiados se encontraron dos pares de mesenterios directivos asociados a dos sifonoglifos.

Microanatomía y elementos musculares- El esfínter es circunscripto palmado (Figura 12a), con forma circular u oval, dispuesto en la cima de la columna. Los músculos circulares de la columna están bien desarrollados. En los tentáculos, el ectodermo es espeso, con pliegues y abundantes cnidocistos (Figura 12b); la mesogloea se introduce en estos pliegues y el endodermo tiene el espesor más reducido que la mesogloea. Músculos ectodérmicos longitudinales presentes. Los músculos retractores de los mesenterios son circunscriptos. Los músculos parietobasilares están bien desarrollados y los basilares son visibles a ambos lados del lugar de la inserción mesenterial en el disco pedal. Entre las fibras de la mesogloea se observan muchas células intersticiales. La especie no presenta zooxantelas en sus tejidos.

Gónadas- Gonocóricos, sin dimorfismo sexual. Las gónadas se desarrollan en los mesenterios de todos los ciclos, excepto en los directivos. En algunos ejemplares las gónadas, en el cuarto ciclo, pueden estar poco desarrolladas o ausentes. Éstas se ubican en el tracto cnidoglandular entre los músculos retractores y los filamentos mesenteriales. Cuanto más joven es el mesenterio, las gónadas aparecen más distalmente, resultando gónadas de diferentes longitudes en mesenterios de ciclos distintos. Las gónadas masculinas son blanquecinas y levemente globosas, las femeninas, cuando están poco desarrolladas, se asemejan a las masculinas y con la madurez se tornan grises y más estiradas.

Cnidoma- Espirocistos, b-rabdoides, p-rabdoides A, p-rabdoides B1a, holotricos. La distribución y tallas de los cnidocistos están presentados en la Tabla V.

Distribución geográfica- Hasta el momento se conoce exclusivamente en la República Argentina. Se distribuye en la costa de la provincia de Buenos Aires desde Santa Clara del Mar hasta Mar del Plata.

Observaciones ecológicas- Es muy común en el intermareal y el infralitoral superior de las costas de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Trabajos previos realizados con ejemplares de esta área (considerando la especie como *P. clematis*) muestran que *B. zamponiamum* habita una gran variedad de microambientes desde grietas, donde son de mayor talla, hasta áreas expuestas, con gran densidad poblacional y dispersión agrupada (ACUÑA & ZAMPONI, 1995). Se caracteriza por ser polífaga oportunista (ACUÑA & ZAMPONI, 1996). Estudios de su biología reproductiva muestran que la especie es dioica, con un patrón reproductivo del tipo ovíparo-pelágico-planctotrófico (EXCOFFON & ZAMPONI, 1991).

Observaciones sistemáticas- ZAMPONI (1977) registró la presencia de *Phymactis clematis* en las costas de la provincia de Buenos Aires. El género *Phymactis* es muy similar externamente a *Bunodosoma*. Difieren en el tipo de esfínter y abundancia de los cnidocistos en los *acrorhagi*. El primer género tiene el esfínter difuso y escasos cnidocistos del tipo holotrico en los *acrorhagi*, donde son más abundantes los b-rabdoides. El género *Bunodosoma* se caracteriza por el esfínter circunscripto y una gran abundancia de los holotricos en los *acrorhagi*. Las principales diferencias entre estas dos especies se presentan

en la Tabla VI. No hay duda de que el registro de *P. clematis* para la costa bonaerense fue debido a un error de identificación, ya que la especie descrita en el presente estudio ocupa las mismas localidades y nichos que la mencionada por ZAMPONI (*op. cit.*), siendo la especie dominante en el intermareal de Mar del Plata. Además, en todos los muestreos realizados en el área, no fue colectado ningún ejemplar que pudiera representar al género *Phymactis*. La nueva especie se asemeja mucho externamente a *Bunodosoma cangicum*, especie presente en toda la costa brasileña y también en la costa de Uruguay. No obstante difiere claramente de ella por el número de ciclos de mesenterios, además de diferencias en el cnidoma (Tabla VI). *B. zamponianum* presenta un número de 48 pares de mesenterios distribuidos en 4 ciclos con la fórmula: $(2+4)+6+12+24$, mientras que *B. cangicum* posee el mismo número de mesenterios pero dispuestos en 3 ciclos con la fórmula: $(2+10)+12+24$. Las especies *B. granuliferum* (Lesueur, 1817) y *B. biscayensis* (Fischer, 1874) también poseen 4 ciclos de mesenterios totalizando 48 pares, pero ambas presentan un claro patrón de bandas en la columna que las caracteriza y está ausente en la nueva especie. Asimismo hay diferencias en el cnidoma y en la disposición de las gónadas. El análisis genético apoya la posición de que *B. zamponianum* es cogenérica pero no coespecífica con *B. cangicum*, *B. granuliferum* y *B. caissarum*. DEN HARTOG (1987) propone una enmienda a la diagnosis del género *Bunodosoma*. En ella el autor establece que el número de ciclos de mesenterios en el género es de 4 o 5. Asimismo, afirma que el músculo retractor de los mesenterios es difuso (DEN HARTOG, 1987:555-556). En el presente trabajo esta nueva diagnosis del género no fue considerada debido a que no coincide con lo registrado para la nueva especie ni para otras especies del género presentes en América del Sur. Las especies *B. zamponianum*, *B. caissarum* y *B. cangicum* presentan los músculos retractores circunscriptos y la última especie tiene solamente 3 ciclos de mesenterios. El cnidoma de la nueva especie es muy similar a las demás especies del género. El p-rabdoide B1a presente en los filamentos también ha sido registrado en *B. caissarum* y *B. goanensis* Den Hartog & Vennam, 1993 pero, a diferencia de estas dos especies, en *B. zamponianum* solo se identificó una clase de talla para dicho cnidocisto.

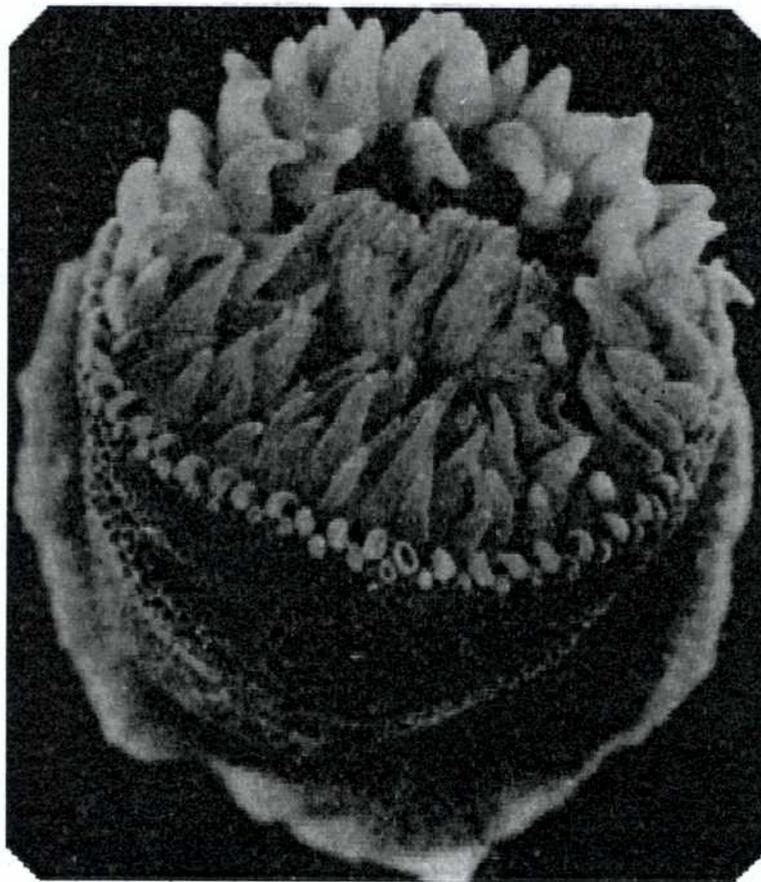
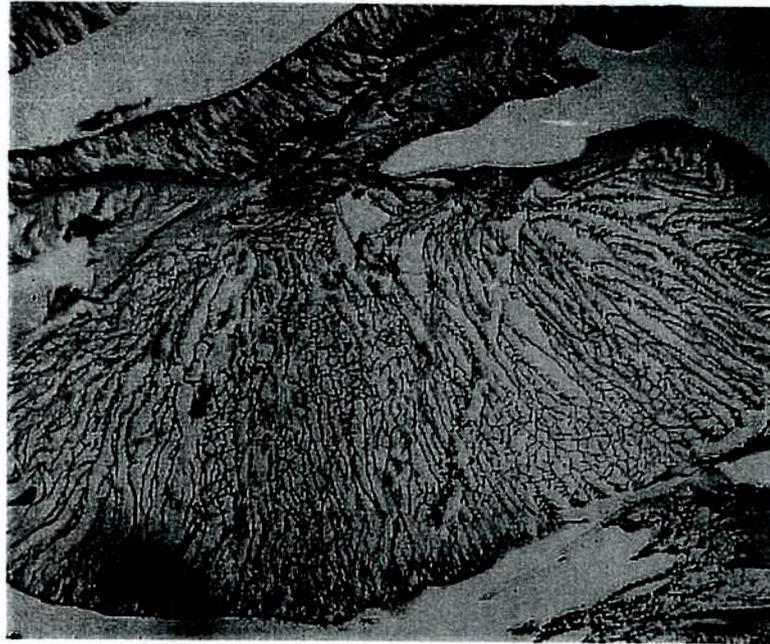
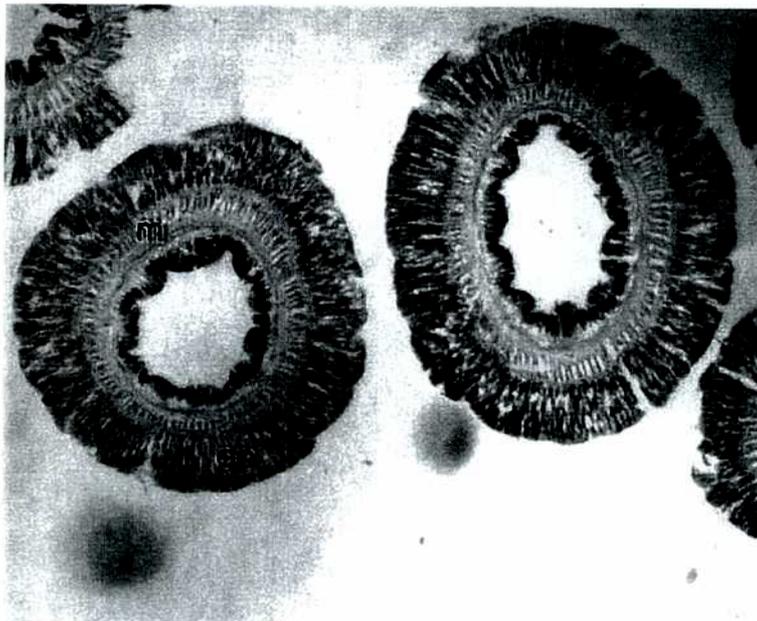


Figura 11. *Bunodosoma zamponianum*. Aspecto Externo (Foto Mauricio Zamponi)



A



B

Figura 12. *Bunodosoma zamponianum*. A. Corte transversal del esfínter. B. Corte transversal del tentáculo. ec, ectodermo; m, mesoglea; e, endodermo.

Tabla V. Cnidoma de *Bunodosoma zamponianum*. (), valor mínimo-valor máximo; largo X ancho; n, número de cápsulas medidas; Abund., abundancia; MA, muy abundantes; A, abundantes; M, muchos; P, pocos; R, raros; * según la región de la columna eran mayores o menores, pareciendo formar dos grupos de tallas; ** presentes solamente en aproximadamente la mitad de los ejemplares estudiados; *** muchos en la mitad de la columna, ausentes o raros en otras regiones: **** aparecen en pocos preparados.

Local	Cnidocisto	Rango (µm)	Media	Desvío	n	Abund.
Tentáculo	Espirocisto	(10,0-25,4) X (2,0-2,4)	17,12 X 2,31	3,82 X 1,57	40	MA
	b-rabdoide	(13,0-31,8) X (2,0-3,0)	21,75 X 2,42	4,77 X 0,48	40	A
<i>Acrorhagus</i>	Holotrico	(29,9-55,1) X (3,0-6,4)	41,32 X 4,74	8,26 X 0,90	40	A
	Espirocisto	(19,1-39,6) X (2,0-4,2)	26,26 X 3,47	4,36 X 4,36	40	M
Columna	b-rabdoide	(14,0-23,3) X (2,0-4,2)	16,83 X 2,66	2,98 X 0,69	20	P
	b-rabdoide*	(10,6-24,0) X (2,0-3,0)	16,59 X 2,30	2,96 X 0,44	67	A
	Espirocisto**	(14,8-30,0) X (2,0-3,0)	23,08 X 2,31	4,04 X 0,39	15	R
	Holotrico***	(17,0-25,0) X (2,0-5,0)	21,89 X 4,11	1,86 X 0,39	36	M
	Holotrico****	(30,0-46,0) X (3,0-6,0)	36,50 X 4,50	4,95 X 0,85	10	R
Faringe	Espirocisto	(17,0-22,8) X (2,1-2,4)	20,69 X 2,29	2,62 X 0,14	10	R
	b-rabdoide	(18,0-32,4) X (2,4-4,24)	24,43 X 3,23	4,22 X 0,90	25	M
	p-rabdoide	(23,3-27,6) X (4,0-5,0)	25,2 X 4,8	1,84 X 0,14	15	M
Filamento	b-rabdoide (grande)	(37,0-53,0) X (4,0-6,0)	43,31 X 5,19	4,54 X 0,54	16	M
	b-rabdoide (medio)	(21,0-27,0) X (2,0-3,0)	22,4 X 2,87	2,13 X 0,35	15	P
	b-rabdoide (pequeño)	(8,4-19,0) X 2,0	14,47 X 2,0	2,47 X 0,0	20	M
	p-rabdoide A	(19,0-27,0) X (4,0-6,0)	22,2 X 4,72	2,18 X 0,59	15	M
	p-rabdoide B1a ****	(15,0-20,0) X (5,0-6,0)	17,67 X 5,2	1,42 X 0,14	10	R

Tabla VI. Comparación de los principales aspectos morfológicos entre *Phymactis clematis*, *Bunodosoma zamponianum* y *B. cangicum*. (-) no se dispone de informaciones; P, presente; A, ausente; (a) Fuente: McMurrich, 1904; (b) Fuente: Corrêa, 1964; (c) característica del género.

ASPECTO	<i>Phymactis clematis</i> (a)	<i>Bunodosoma zamponianum</i>	<i>Bunodosoma cangicum</i> (b)
Esfinter	Difuso	Circunscripto	Circunscripto
Nº ciclos tentáculos	5	5	5
Nº total tentáculos	192	96	96
Nº ciclos mesenterios	5	4	3
Nº total mesenterios	96	96	96
Nº y ciclo <i>acrorhagi</i>	-	48 + 48	48 + 48
Disposición de las gónadas	1º, 2º y 3º ciclos estériles	Sólo directivos estériles	Directivos y a veces 1º ciclo estériles
Número sifonoglifos	2	2	2
CNIDOMA			
Tentáculo espirocisto	-	P	P
b-rabdoide	-	P	P
<i>Acrorhagi</i> holotrico	Pocos (c)	Muchos	Muchos
Espirocisto	-	P	P
b-rabdoide	Muchos (c)	Pocos	Pocos
Faringe b-rabdoide	-	P	P
p-rabdoide	-	A	P
espirocisto	-	P	A
Columna espirocisto	-	P	A
b-rabdoide	-	P	P
holotrico	-	P	P
Filamento b-rabdoide	-	P	P
p-rabdoide	-	P	P

4.2. DATOS MORFOLÓGICOS

4.2.1. ANÁLISIS DE CADA VARIABLE

Las Tablas VII a X presentan la media, el desvío estándar, la moda y los valores mínimo y máximo de cada variable por localidad y la Tabla XI lo mismo pero considerando todas las localidades juntas. Sobre la base de estas tablas se construyeron gráficos comparando la media y el rango de variación de los valores (Figuras 13 a 15) de los caracteres entre las 4 poblaciones estudiadas. Por la observación de estos gráficos y tablas se puede evaluar el comportamiento de cada variable. De forma general, la población de Tamandaré fue la que presentó el mayor rango de variación en la mayoría de las variables, mostrando los valores más altos de desvío estándar. Asimismo, es clara la diferencia en la distribución de los valores entre las poblaciones del sudeste del país (Búzios y Aracruz) y las de Pernambuco (Tamandaré y Piedade) en lo que se refiere a las variables relacionadas a la talla. En los gráficos del peso húmedo, altura de la columna y diámetro del disco oral se observa que las poblaciones del sudeste presentaron un menor rango de variación con valores similares a los más bajos de las poblaciones de Pernambuco para los dos primeros caracteres, lo que resultó en medias más bajas y un menor desvío estándar en estas poblaciones. Los valores del diámetro del disco oral tuvieron un rango de variación menor pero dentro de los valores intermedios de las poblaciones de Tamandaré y Piedade. El diámetro del disco pedal mostró medias y desvíos similares en las 4 poblaciones. Las variables que trataron del número de vesículas (número de filas de vesículas, número de vesículas por fila y número total) mostraron un patrón similar de distribución de los valores. En lo que se refiere a los *acrorhagi*, la población de Aracruz tuvo el menor rango de variación tanto en el número cuanto en el diámetro de los mismos. Esta población también fue la más estable en el número de mesenterios y de sifonoglifos, con valores de desvío estándar muy bajos. El ancho del esfínter tuvo la media y la dispersión de los valores similares en todas las poblaciones; y el largo del mismo tuvo un rango más amplio en las poblaciones de Piedade y Tamandaré. El estudio de la talla de los cnidocistos mostró gran estabilidad en los valores del ancho de los cnidocistos, con desvíos iguales o prójimos a zero. Por esta razón, los análisis se realizaron sólo con las medidas del largo de estas estructuras. En las Tablas XII a XV se presentan las

medias, desvíos, valores mínimos y máximos de cada tipo de cnidocisto analizado en las cuatro localidades.

Para algunos caracteres de gran valor diagnóstico como número de tentáculos, de mesenterios, de *acrorhagi* y de sifonoglifos, la media y la moda no fueron siempre similares (Tablas VII a X). Aunque la media sirva para la comparación entre las poblaciones, la misma no sirve para caracterizar sistemáticamente la especie, ya que fluctúa debido a los valores mínimos y máximos de los caracteres. Por otro lado, la moda, por ser el valor más encontrado en la población, sirve de forma ideal para caracterizar a la especie. Por esta razón, para los caracteres ya mencionados, se presentan gráficos de barras de los porcentajes de ocurrencia de los valores en las poblaciones, siendo el sector mayor el que representa la moda (Figuras 16 a 19). Como se puede observar en los gráficos, el número de mesenterios y de sifonoglifos mostró la misma moda en todas las poblaciones coincidiendo con los valores que caracterizan a la especie *B. cangicum* (número de mesenterios= 96; número de sifonoglifos = 2). Para el número de tentáculos y de *acrorhagi*, la moda no coincidió en todas las poblaciones, pero la moda total (Figura 20) también fue igual a los valores citados en la descripción de la especie (número de tentáculos= 96; número de *acrorhagi* por ciclo= 48).

La frecuencia de los diferentes estados sexuales en las poblaciones se muestra en la Tabla XVI y está representada en un gráfico en la Figura 21. Todos los ejemplares de Aracruz resultaron estériles.

Los estudios de correlación revelaron que el largo y el ancho del esfínter están positivamente relacionados ($r= 0,75$), pero que son independientes de otros caracteres como los relacionados con la talla del organismo. Las elevadas correlaciones presentadas por el número de filas de vesículas y vesículas por fila con el número total ($r= 0,79$ y $r= 0,66$, respectivamente) no deben ser consideradas, pues el número total es dependiente de las otras dos variables. El peso húmedo mostró los mayores valores de correlación con el diámetro del margen ($r= 0,73$) y con la altura de la columna ($r= 0,69$). Ya el diámetro del disco pedal presentó la mejor correlación con el peso húmedo ($r= 0,57$), pero el mismo no fue suficientemente alto para indicar una correlación significativa entre los dos caracteres. El sexo no se mostró correlacionado con ningún otro carácter.

Tabla VII- *Bunodosoma cangicum*- Tamandaré- PE. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos analizados. N= Número de ejemplares analizados.

	FILAS	VESICULA	NTOTAL	NTENTA	NACRO	DIAACRO	NMESEN
N	30	30	30	29	29	30	29
Media	80,20	38,00	3016,67	94,14	41,21	,627	98,21
Moda	92 ^a	32	2176	96	48	,5	96
Desvío	23,32	8,22	1075,23	22,97	10,12	,203	20,10
Mínimo	32	28	1400	50	12	,3	56
Máximo	140	68	6720	192	53	1,3	192

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

	LARGESFI	ANESFI	NSIFONO	PESOHU	ALTURA	DIAMARG	DIAMBASE
N	29	29	27	30	30	30	30
Media	1,069	,638	1,98	7,8930	2,280	1,873	1,727
Moda	1,0	,7	2	6,58	2,2 ^a	1,5 ^a	1,1
Desvío	,258	,190	,44	4,8080	,629	,581	,566
Mínimo	,5	,3	1	1,71	1,2	,9	1,0
Máximo	1,6	1,0	3	22,18	3,5	3,2	3,0

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

Tabla VIII- *Bunodosoma cangicum*- Piedade- PE. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados. N= Número de ejemplares analizados.

	FILAS	VESICULA	NTOTAL	NTENTA	NACRO	DIAACRO	NMESEN
N	34	34	34	34	31	31	33
Media	86,59	40,12	3510,94	93,65	45,00	,855	98,91
Moda	76	36	2736 ^a	94	48	,8	96
Desvío	16,40	8,68	1188,98	11,74	8,33	,275	8,66
Mínimo	62	26	1984	58	16	,5	58
Máximo	140	66	7168	114	55	1,7	112

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

	LARGESFI	ANESFI	NSIFONO	PESOHU	ALTURA	DIAMARG	DIAMBASE
N	34	34	34	34	34	34	34
Media	1,091	,679	1,91	10,0724	2,606	1,897	1,912
Moda	,9 ^a	,5	2	2,08 ^a	2,3	2,0	1,5
Desvío	,319	,172	,29	5,8348	,669	,620	,558
Mínimo	,5	,5	1	2,08	1,7	,8	1,0
Máximo	2,0	1,0	2	28,26	4,2	3,5	3,5

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

RESULTADOS

Tabla IX- *Bunodosoma cangicum*- Búzios- RJ. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados. N= Número de ejemplares analizados.

	FILAS	VESICULA	NTOTAL	NTENTA	NACRO	DIAACRO	NMESEN
N	12	12	12	12	9	9	12
Media	84,50	32,83	2785,67	79,67	38,56	1,211	91,33
Moda	84	32	2048 ^a	92	38	1,4	96
Desvío	9,19	3,86	514,84	13,32	7,02	,411	9,92
Mínimo	64	26	2048	54	24	,7	64
Máximo	98	40	3528	92	48	2,0	96

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

	LARGESFI	ANESFI	NSIFONO	PESOHU	ALTURA	DIAMARG	DIAMBASE
N	11	11	12	12	12	12	12
Media	1,282	,818	2,00	5,1592	1,992	1,358	1,908
Moda	1,2	,9 ^a	2	2,07 ^a	1,5 ^a	1,1 ^a	8 ^a
Desvío	,227	,172	,43	2,2358	,345	,323	,623
Mínimo	,9	,5	1	2,07	1,5	,9	8
Máximo	1,8	1,0	3	8,33	2,5	1,8	2,7

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

Tabla X- *Bunodosoma cangicum*- Aracruz- ES. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados. N= Número de ejemplares analizados.

	FILAS	VESICULA	NTOTAL	NTENTA	NACRO	DIAACRO	NMESEN
N	7	7	7	7	7	7	7
Media	83,14	38,57	3193,14	90,29	44,86	,657	96,57
Moda	94	42	3948	96	48	,7	96
Desvío	16,73	3,41	656,38	5,71	5,27	7,868E-02	1,51
Mínimo	56	34	2352	82	34	,5	96
Máximo	94	42	3948	96	48	,7	100

	LARGESFI	ANESFI	NSIFONO	PESOHU	ALTURA	DIAMARG	DIAMBASE
N	7	7	7	7	7	7	7
Media	1,086	,800	2,00	3,3343	1,719	1,757	1,671
Moda	,9 ^a	,6	2	,99 ^a	1,5	1,3 ^a	1,8
Desvío	,195	,283	,00	2,1896	,404	,382	,624
Mínimo	,9	,5	2	,99	1,1	1,3	,7
Máximo	1,4	1,3	2	6,88	2,2	2,3	2,5

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

Tabla XI- *Bunodosoma cangicum*- Todas las poblaciones. Media, Moda, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los caracteres morfológicos estudiados. N= Número de ejemplares analizados.

	FILAS	VESICULA	NTOTAL	NTENTA	NACRO	DIAACRO	NMESEN
N	83	83	83	82	77	77	81
Media	83,69	38,17	3200,63	91,49	42,22	,790	96,52
Moda	76 ^a	36	2176 ^a	96	48	,5	96
Desvío	18,45	7,93	1059,43	17,04	10,09	,314	13,79
Mínimo	32	26	1400	50	0	,3	56
Máximo	140	68	7168	192	55	2,0	192

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

	LARGESFI	ANESFI	NSIFONO	PESOHU	ALTURA	DIAMARG	DIAMBASE
N	81	81	80	83	83	83	83
Media	1,109	,694	1,95	8,0060	2,324	1,799	1,824
Moda	1,0	,7	2	1,71 ^a	2,3	1,7 ^a	1,5
Desvío	,282	,197	,35	5,2652	,655	,578	,574
Mínimo	,5	,3	1	,99	1,1	,8	,7
Máximo	2,0	1,3	3	26,26	4,2	3,5	3,5

a. Existen varias modas. Se presenta el menor valor.

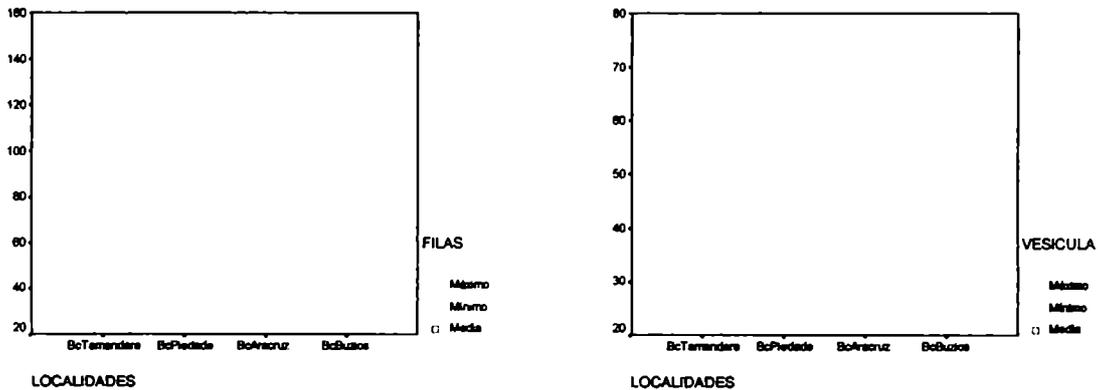


Figura 13- *Bunodosoma cangicum*. Media y rango de variación en las poblaciones. A- Número de filas de vesículas; B- Número de vesículas por fila.

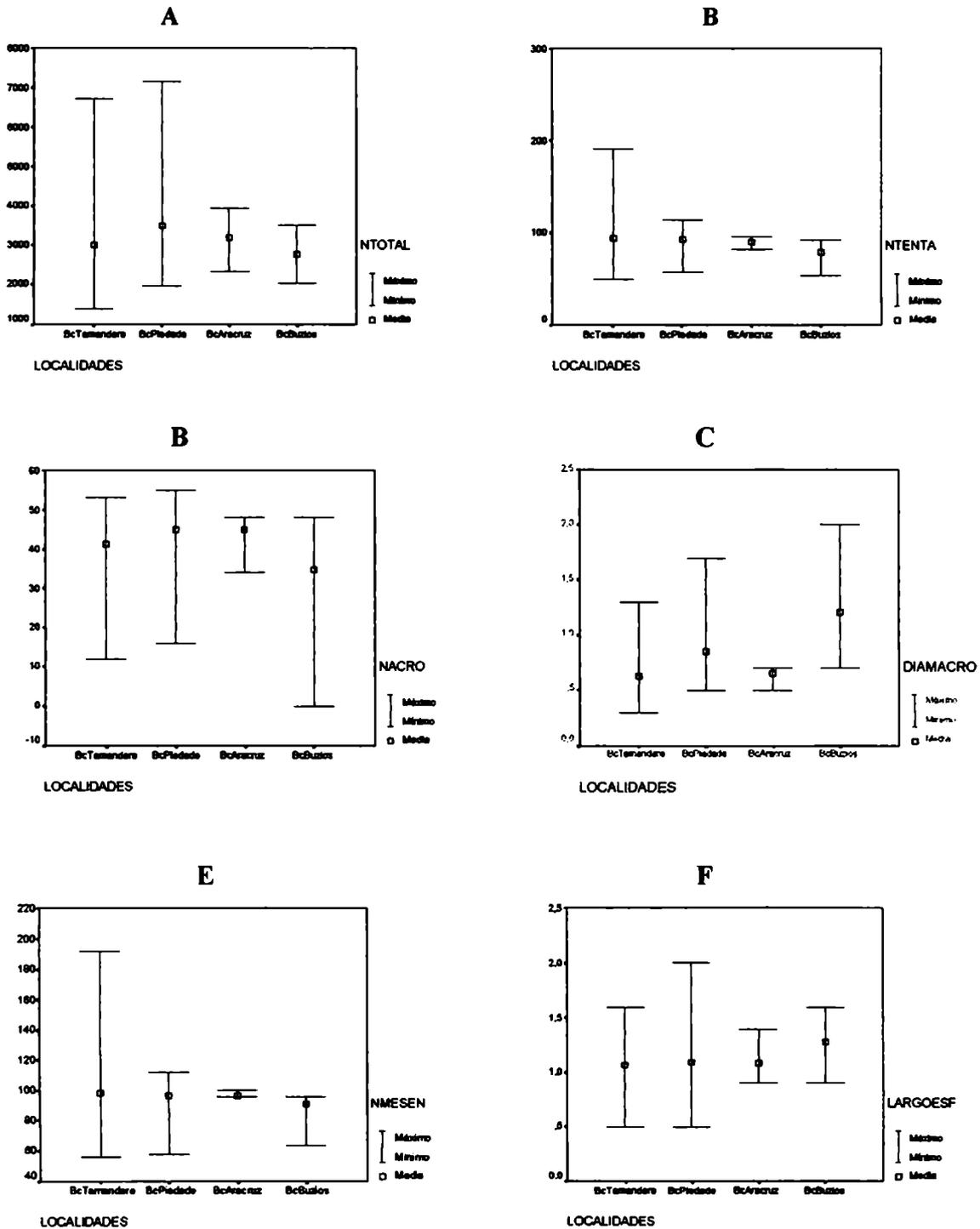


Figura 14- *Bunodosoma cangicum*. Media y rango de variación en las poblaciones A- Número total de vesículas; B- Número de tentáculos; C- Número de *acrorhagi*; D- Diámetro de los *acrorhagi*; E- Número de mesenterios; F- Largo del esfínter.

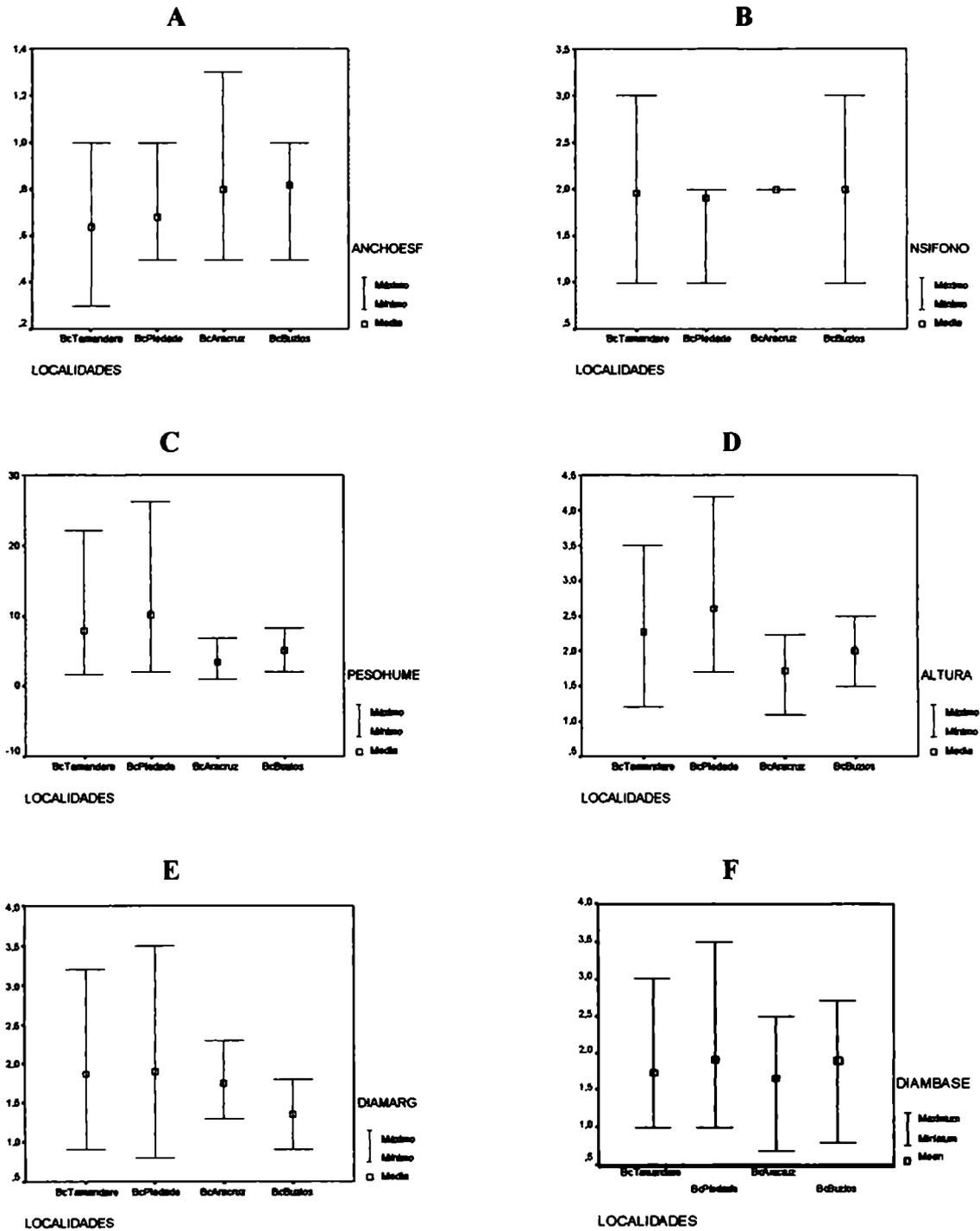


Figura 15- *Bunodosoma cangicum*. Media y rango de variación en las poblaciones. A- Ancho del esfínter; B- Número de sifonoglifos; C- Peso húmedo; D- Altura de la columna; E- diámetro del margen; F- Diámetro de la base.

	N	valor mínimo	valor máximo	media	desvío estándar
b-rabdoide (T)	120	14,0	21,0	18,307	1,328
espirocisto (T)	120	11,0	25,0	18,294	3,100
b-rabdoide (F)	120	11,0	25,3	16,018	4,344
holotrico (A)	120	32,0	51,7	42,550	3,753

Tabla XII- *Bunodosoma cangicum*- Tamandaré- PE. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los tipos de cnidocistos analizados. N= Número de ejemplares analizados; T, tentáculo; F, faringe; A, acrorhagus.

	N	valor mínimo	valor máximo	media	desvío estándar
b-rabdoide (T)	120	14,0	20,0	18,410	1,250
espirocisto (T)	120	11,0	23,1	17,362	3,029
b-rabdoide (F)	120	11,0	25,3	18,300	4,096
holotrico (A)	120	37,4	49,8	42,661	3,445

Tabla XIII- *Bunodosoma cangicum*- Pidade- PE. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los tipos de cnidocistos analizados. N= Número de ejemplares analizados; T, tentáculo; F, faringe; A, acrorhagus.

	N	valor mínimo	valor máximo	media	desvío estándar
b-rabdoide (T)	70	18,0	30,0	23,366	2,061
espirocisto (T)	70	14,4	32,4	22,094	3,998
b-rabdoide (F)	69	19,2	33,6	27,252	3,705
holotrico (A)	70	33,6	58,8	46,297	5,645

Tabla XIV- *Bunodosoma cangicum*- Aracruz- ES. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los tipos de cnidocistos analizados. N= Número de ejemplares analizados; T, tentáculo; F, faringe; A, acrorhagus.

	N	valor mínimo	valor máximo	media	desvío estándar
b-rabdoide (T)	120	20,4	34,1	24,164	2,451
espirocisto (T)	120	14,4	31,2	23,300	3,321
b-rabdoide (F)	120	22,8	39,6	30,253	3,029
holotrico (A)	120	42,0	65,4	52,615	4,123

Tabla XV- *Bunodosoma cangicum*- Búzios- RJ. Media, Desvío estándar, valor mínimo y valor máximo de los tipos de cnidocistos analizados. N= Número de ejemplares analizados; T, tentáculo; F, faringe; A, acrorhagus.

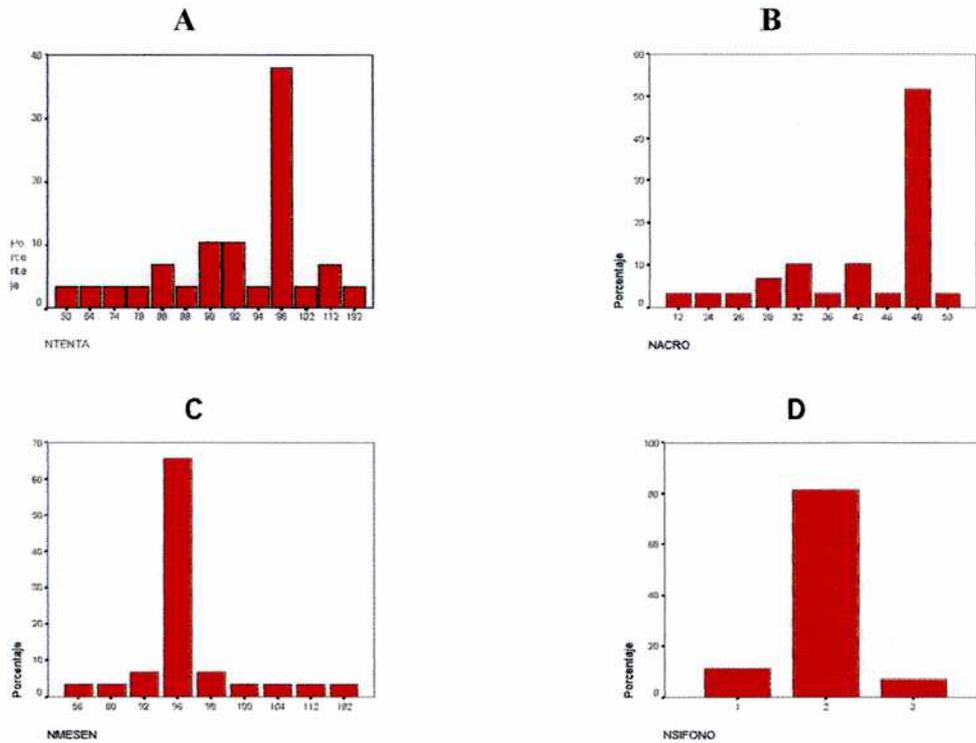


Figura 16. *Bunodosoma cangicum*- Tamandaré-PE. Porcentaje de frecuencia de los valores. El mayor porcentaje corresponde a la moda. A- Número de tentáculos; B- Número de *acrorhagi*; C- Número de mesenterios; D- Número de sifonoglifos.

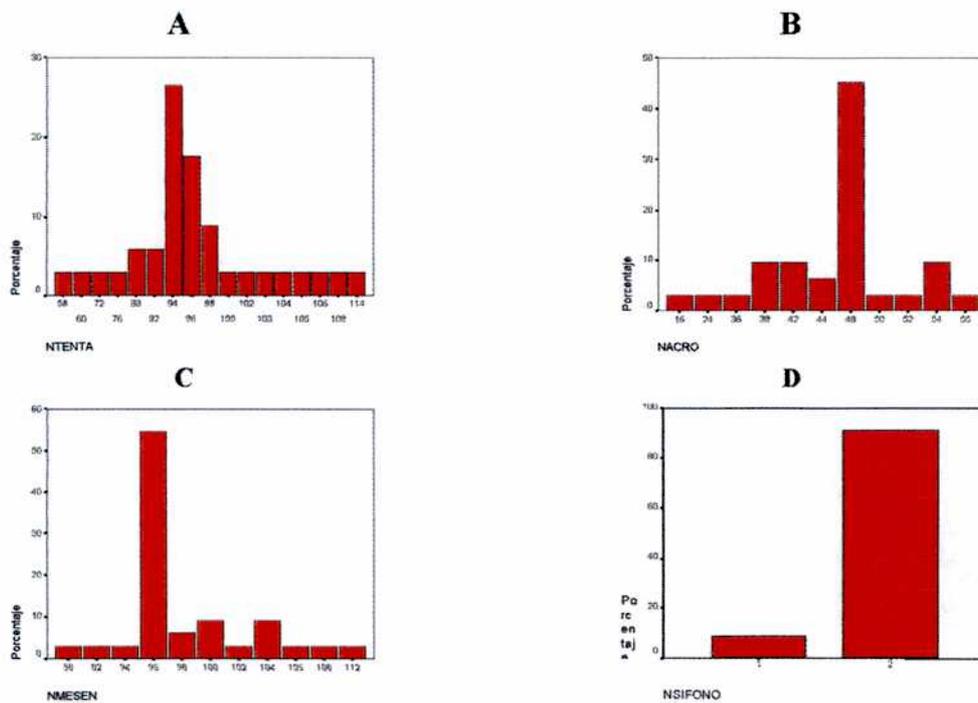


Figura 17. *Bunodosoma cangicum*- Piedade-PE. Porcentaje de frecuencia de los valores. El mayor porcentaje corresponde a la moda. A- Número de tentáculos; B- Número de *acrorhagi*; C- Número de mesenterios; D- Número de sifonoglifos.

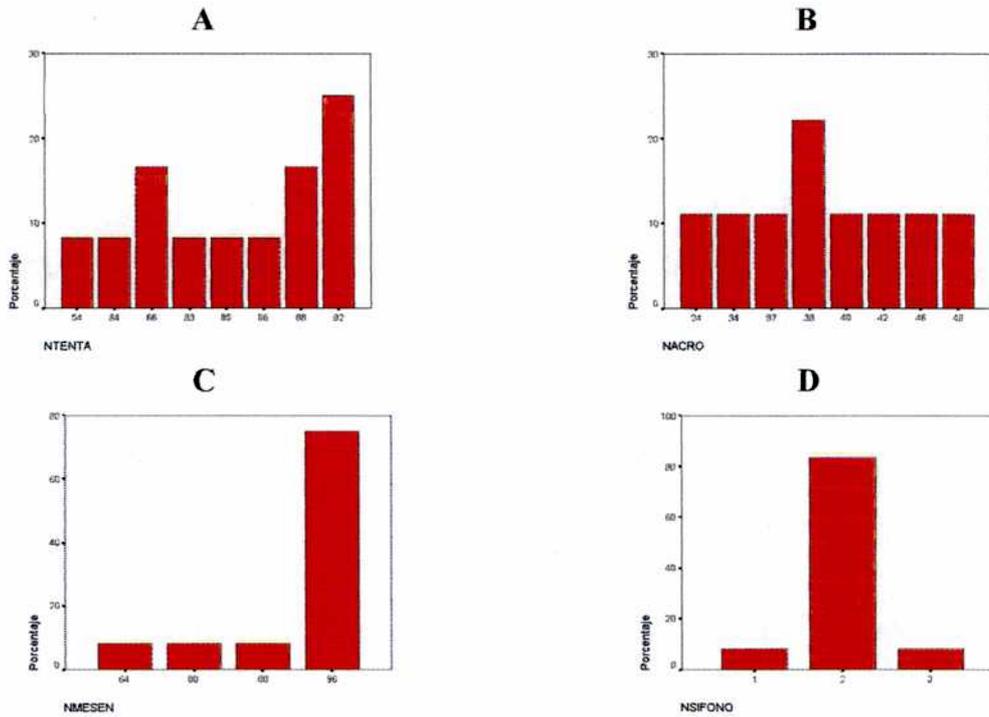


Figura 18. *Bunodosoma cangicum*- Buzios-RJ. Porcentaje de frecuencia de los valores. El mayor porcentaje corresponde a la moda. A- Número de tentáculos; B- Número de *acrorhagi*; C- Número de mesenterios; D- Número de sifonoglifos

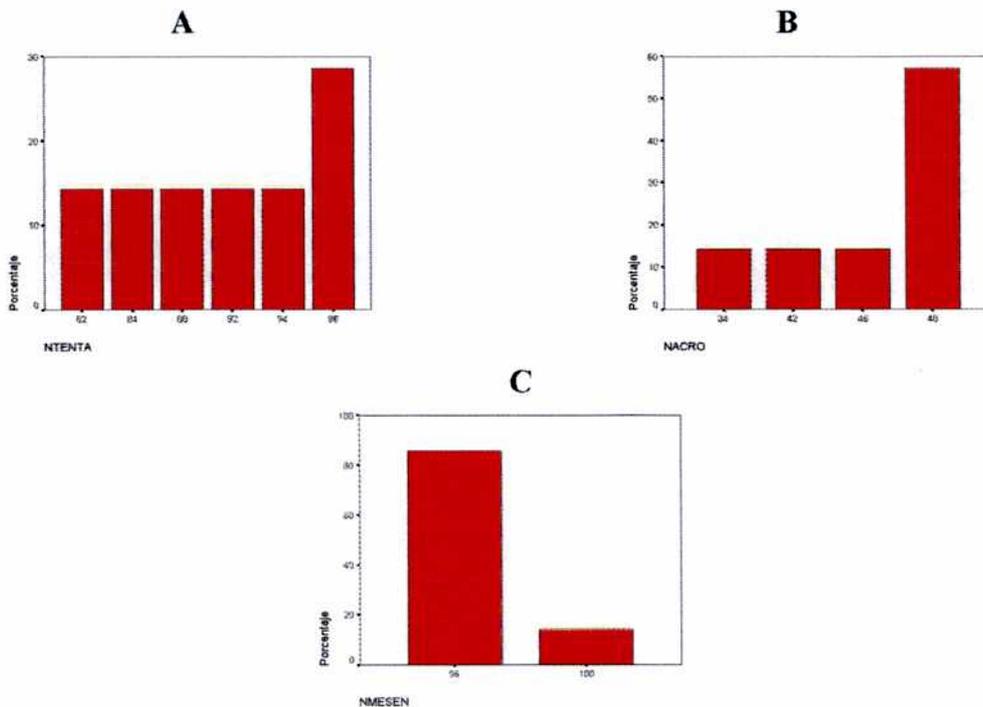


Figura 19. *Bunodosoma cangicum*- Aracruz-ES. Porcentaje de frecuencia de los valores. El mayor porcentaje corresponde a la moda. A- Número de tentáculos; B- Número de *acrorhagi*; C- Número de mesenterios. El número de sifonoglifos fue constante e igual a 2 por lo que no se lo representa.

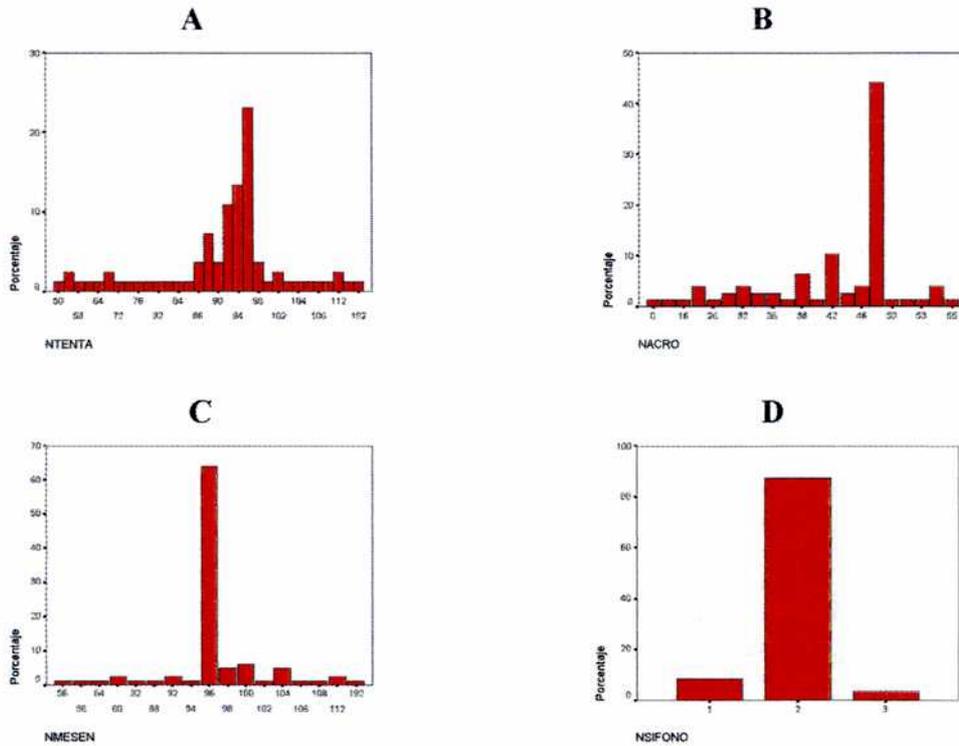


Figura 20. *Bunodosoma cangicum*. Porcentaje total de frecuencia de los valores en todas las localidades. El mayor porcentaje corresponde a la moda. A- Número de tentáculos; B- Número de acrorhagi; C- Número de mesenterios; D- Número de sifonoforos.

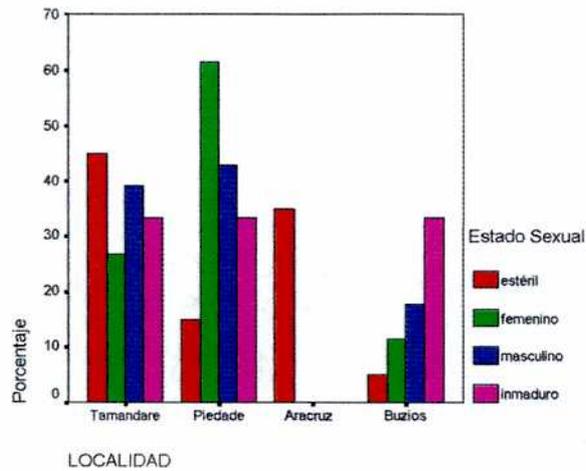


Figura 21. *Bunodosoma cangicum*. Porcentaje de los estados sexuales en las 4 localidades.

Tabla XVI. *Bunodosoma cangicum*. Porcentaje de los estados sexuales en las localidades.

			LOCALIDAD				Total
			Tamandaré	Piedade	Aracruz	Búzios	
Estado sexual	Estéril	% en el estado sexual	45,0%	15,0%	35,0%	5,0%	100,0%
		% en la localidad	30,0%	8,8%	100,0%	8,3%	24,1%
	Femenino	% en el estado sexual	26,9%	61,5%		11,5%	100,0%
		% en la localidad	23,3%	47,1%		25,0%	31,3%
	Masculino	% en el estado sexual	39,3%	42,9%		17,9%	100,0%
		% en la localidad	36,7%	35,3%		41,7%	33,7%
	Inmaduro	% en el estado sexual	33,3%	33,3%		33,3%	100,0%
		% en la localidad	10,0%	8,8%		25,0%	10,8%
Total		% en el estado sexual	36,1%	41,0%	8,4%	14,5%	100,0%
		% en la localidad	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

4.2.2. COMPARACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES

Los resultados del test de Kruskal-Wallis revelaron que siete de los 14 caracteres estudiados rechazaron la hipótesis nula ($p < 0,05$) de poseer la misma media para todas las localidades (Tabla XVII). Estas variables menos estables fueron: número de vesículas, número de tentáculos, número de *acrorhagi*, diámetro de los *acrorhagi*, peso húmedo, altura de la columna y diámetro del margen. Los resultados de los análisis de las poblaciones (Tabla XVIII) y la observación de los gráficos de las figuras 22 y 23, muestran que para casi todas las variables cuyas medias no fueron iguales en todas las localidades, la población de Búzios fue la que presentó las medias más diferentes de las demás. Solamente para el peso húmedo y el diámetro del disco oral las diferencias se observan en la población de Búzios y también en la de Aracruz. La media del largo de los cnidocistos en las localidades no presentó diferencias significativas para ningún de los tipos de estas estructura ($p < 0,05$).

Tabla XVII- *Bunodosoma cangicum*. Resultado del test de Kruskal-Wallis de comparación de las medias entre las localidades. Los valores de $p < 0,05$ indican los caracteres que no presentaron la misma media en las cuatro localidades.

CARACTER	p
FILAS	0,866
VESÍCULAS	0,015
NTOTAL	0,165
NTENTA	0,001
NACRO	0,016
DIAACRO	0,000
NMESEN	0,062
LARGESFI	0,113
ANESFI	0,058
NSIFONO	0,853
PESOHU	0,001
ALTURA	0,001
DIAMARG	0,019
DIAMBASE	0,522

Tabla XVIII- *Bunodosoma cangicum*. Resultado del test para comparación dos a dos entre las medias de las poblaciones para las variables que presentaron diferencias entre las localidades. Nivel de significancia 0,05. T, Tamandaré; P, Piedade; B, Búzios; A, Aracruz; S, diferencia significativa; NS, diferencia no significativa,

CARACTER	TxP	TxB	TxA	PxB	PxA	BxA
VESÍCULAS	NS	S	NS	S	NS	S
NTENTA	NS	S	NS	S	NS	S
NACRO	NS	S	NS	S	NS	S
DIAACRO	S	S	NS	S	S	S
PESOHU	NS	S	S	S	S	S
ALTURA	NS	S	S	S	S	NS
DIAMARG	NS	S	NS	S	NS	S

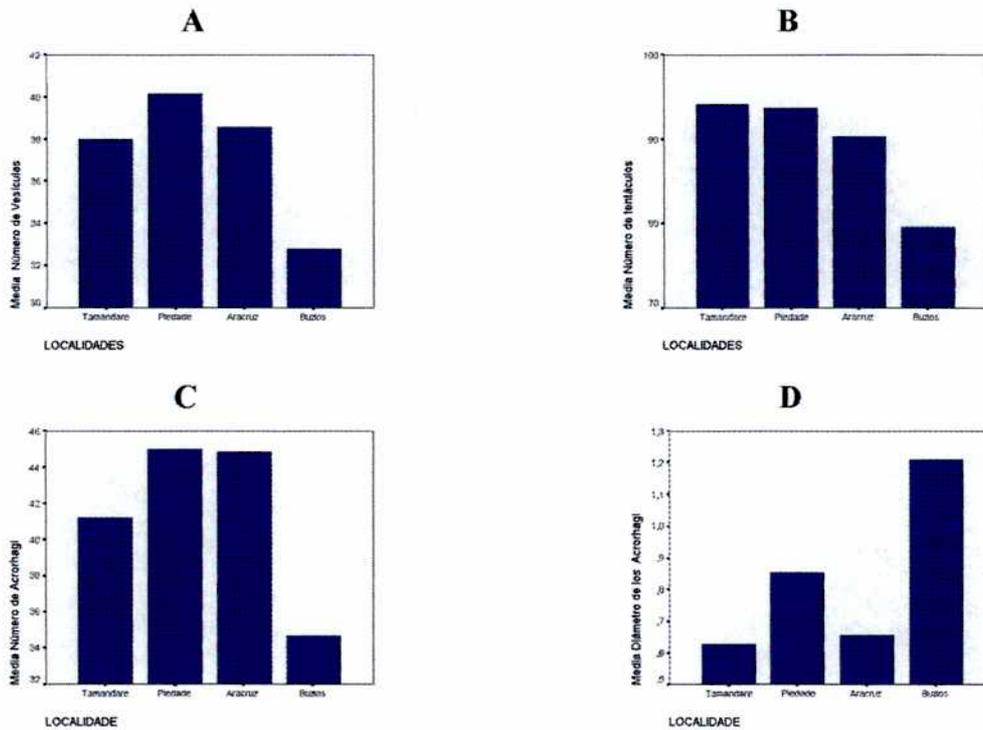


Figura 22. *Bunodosoma cangicum*. Comparación de las medias entre las localidades para las variables que presentaron diferencias significativas (Ver Tablas XIII y XIV). A- Número de vesículas; B- Número de tentáculos; C- Número de *acrorhagi*; D- Diámetro de los *acrorhagi*.

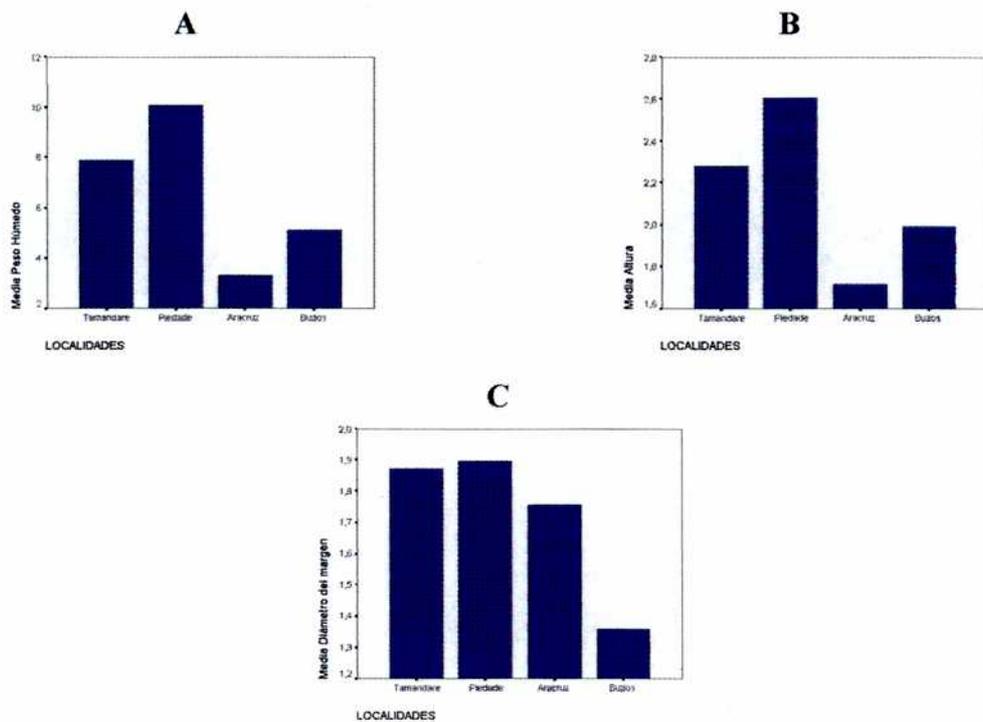


Figura 23. *Bunodosoma cangicum*. Comparación de las medias entre las localidades para las variables que presentaron diferencias significativas (Ver Tablas XIII y XIV). A- Peso húmedo; B- Altura de la columna; C- Diámetro del margen.

4.3. DATOS GENÉTICOS

4.3.1. ANÁLISIS DE LOS DATOS

Las frecuencias alélicas y tamaños muestrales para todos los *loci* estudiados en cada población de *Bunodosoma* spp. están presentadas en la Tabla XIX. Las estimaciones de la identidad génica, I , y la distancia génica, D (NEI, 1978) para todas las comparaciones de pares posibles entre las seis poblaciones están representadas en la Tabla XX. De las tablas mencionadas es posible observar que las dos poblaciones de la especie *B. zamponianum* son genéticamente muy similares, con un elevado valor de identidad génica ($I= 0,986$). De la misma forma, las poblaciones de *B. cangicum* de Búzios y Tamandaré presentaron valor de I igual a 0,920. Por el contrario la identidad génica entre las poblaciones de *B. zamponianum* y *B. cangicum* fue baja ($I= 0,650$ a $0,668$), indicando que realmente se tratan de especies diferentes de un mismo género, ya que la identidad génica observada entre poblaciones intraespecíficas es mayor que 0,800 en el 99% de las veces (THORPE, 1982; THORPE & SOLÉ-CAVA, 1994). Por otro lado la especie *B. granuliferum* presenta los menores valores de I cuando se compara a cualquiera de las otras especies ($I= 0,184$ a $0,246$). El dendrograma UPGMA construido sobre la base de las identidades génicas (Figura 24) mostró la presencia de cuatro especies diferentes, juntando las poblaciones argentinas en un mismo grupo y las de *B. cangicum* en otro.

Para todos los *loci* analizados, las frecuencias genotípicas estuvieron de acuerdo con los valores esperados considerando el equilibrio de Hardy-Weinberg. Los niveles de heterocigosidad fueron muy elevados para todas las poblaciones (H varió de 0,206 a 0,340). Los valores más altos fueron encontrados en *B. zamponianum* y el más bajo en *B. caissarum* (Tabla XXI). El *locus* de SOD fue monomórfico para todas las poblaciones estudiadas. Hecho similar ocurre en MDH-1 donde todas las poblaciones presentaron un único alelo siendo el mismo para todas excepto para *B. caissarum*. Esta última especie presentó nueve de los 22 *loci* (41%) monomórficos (Tabla XXI).

Tabla XIX. *Bunodosoma* spp. Frecuencias alélicas y tamaños muestrales (N) para los 22 loci estudiados en las poblaciones. BzPC, *B. zamponianum*, Punta Cantera; BcTA, *B. cangicum*, Tamandaré; BcBU, *B. cangicum*, Buzios; BzSC, *B. zamponianum*, Santa Clara del Mar; BgCU, *B. granuliferum*, Curaçao; BcaBU, *B. caissarum*, Buzios.

POBLACIONES						
Locus	BzPC	BcTA	BcBU	BzSC	BgCU	BcaBU
ACP						
(N)	18	14	13	18	15	7
A	0,056	0,036	0,038	0,056	0	0
B	0,889	0,929	0,962	0,944	0	0
C	0,056	0,036	0,000	0	0	1,000
D	0	0	0	0	1,000	0
AK-2						
(N)	9	10	16	15	7	4
A	0,278	0,200	0,094	0,400	0	0
B	0	0	0	0	0	0,875
C	0,611	0,200	0,563	0,500	0	0
D	0,111	0,600	0,344	0,100	0	0,125
E	0	0	0	0	0,929	0
F	0	0	0	0	0,071	0
CAT						
(N)	18	14	16	15	16	7
A	0,500	0	0	0,167	0	0
B	0,306	0,357	0,219	0,600	0	0
C	0,194	0,643	0,781	0,233	0	1,000
D	0	0	0	0	0	0
E	0	0	0	0	1,000	0
EST						
(N)	18	13	13	17	14	7
A	0	0,077	0	0,029	0,179	0
B	0,333	0,077	0,192	0,412	0,357	0
C	0,583	0,731	0,654	0,529	0,393	0,500
D	0,083	0,115	0,154	0,029	0,071	0,500
GDH						
(N)	18	14	16	18	15	7
A	0,028	0	0	0,083	0	0
B	0,722	1,000	0,969	0,806	0	0
C	0,250	0	0,031	0,111	0,033	0
D	0	0	0	0	0	1,000
E	0	0	0	0	0,967	0
GOT						
(N)	18	13	14	18	16	5
A	0,194	0	0	0,083	0	0,300
B	0,722	0,615	0,536	0,806	0	0
C	0	0	0	0	0	0,700
D	0,083	0,385	0,464	0,111	0	0
E	0	0	0	0	1,000	0

Tabla XIX. (continuación).

POBLACIONES						
Locus	BzPC	BcTA	BcBU	BzSC	BgCU	BcaBU
HK						
(N)	18	14	13	16	16	7
A	0,639	0,286	0,154	0,281	0	0
B	0,361	0,571	0,577	0,531	0	0,500
C	0	0,143	0,269	0,188	0,063	0,500
D	0	0	0	0	0,688	0
E	0	0	0	0	0,250	0
IDH-1						
(N)	7	10	6	10	1	5
A	0	0,150	0	0,150	0	0,400
B	1,000	0,850	0,833	0,850	0	0,600
C	0	0	0,167	0	0	0
D	0	0	0	0	1,000	0
IDH-2						
(N)	15	14	11	15	7	5
A	0	0	0	0	0	0
B	0,067	0,179	0	0	0,214	0
C	0,633	0,571	0,864	0,767	0,786	0,900
D	0,267	0,250	0,136	0,233	0	0,100
E	0,033	0	0	0	0	0
MDH-1						
(N)	18	14	11	18	16	7
A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0
B	0	0	0	0	0	1,000
MDH-2						
(N)	16	14	14	18	16	7
A	0	0	0	0	0,594	0,571
B	0	0	0	0	0,406	0
C	0,469	0,107	0	0,722	0	0,357
D	0	0,036	0,250	0	0	0,071
E	0,531	0	0	0,278	0	0
F	0	0,321	0,357	0	0	0
G	0	0,536	0,393	0	0	0
ME-1						
(N)	15	14	9	17	7	5
A	0	0	0	0,029	0	0
B	1,000	1,000	1,000	0,971	0	0
C	0	0	0	0	1,000	1,000
ME-2						
(N)	18	14	14	17	16	5
A	0,917	0,929	1,000	0,971	0	0
B	0	0	0	0	0	1,000
C	0,083	0,071	0	0,029	0	0
D	0	0	0	0	1,000	0

Tabla XIX. (continuación).

POBLACIONES						
Locus	BzPC	BcTA	BcBU	BzSC	BgCU	BcaBU
MPI						
(N)	15	11	14	11	14	6
A	0,067	0,045	0	0,045	0	0
B	0,633	0,455	0,607	0,636	0	0
C	0,300	0,500	0,393	0,318	0,464	0,750
D	0	0	0	0	0,536	0,250
ODH						
(N)	13	11	14	13	9	5
A	0	0	0	0,154	0	0,200
B	0	0,955	0,929	0	0	0
C	0	0,045	0,071	0	0,278	0
D	0	0	0	0	0,722	0
E	1,000	0	0	0,846	0	0,800
PEP-1						
(N)	13	9	11	7	16	4
A	0,115	0,222	0,273	0,143	0	0
B	0,731	0,444	0,682	0,571	0	0,375
C	0	0	0	0	0,031	0,250
D	0,154	0,333	0,045	0,286	0	0,375
E	0	0	0	0	0,813	0
F	0	0	0	0	0,156	0
PEP-2						
(N)	18	14	15	10	16	6
A	0	0	0	0	0	0
B	0,194	0,107	0,167	0,300	0,219	0
C	0,806	0,821	0,700	0,650	0,563	0,750
D	0	0,071	0,133	0,050	0,188	0,250
E	0	0	0	0	0,031	0
PGD						
(N)	18	14	16	18	16	7
A	0	0	0	0	0,281	0
B	0	0,143	0,375	0	0,688	0
C	0,167	0,786	0,594	0,056	0,031	0,786
D	0	0,071	0,031	0	0	0,214
E	0,833	0	0	0,944	0	0
PGI-1						
(N)	18	14	16	18	16	7
A	0	0,036	0	0,139	0,438	0
B	0	0	0	0	0,281	0
C	1,000	0	0	0,861	0,281	0
D	0	0,964	1,000	0	0	0,929
E	0	0	0	0	0	0,071
PGI-2						
(N)	18	14	16	17	16	5
A	0	0	0	0	0,375	0
B	0	0	0	0	0,625	1,000
C	0,083	0	0	0,206	0	0
D	0	0,929	1,000	0	0	0
E	0,861	0,071	0	0,794	0	0
F	0,056	0	0	0	0	0

Tabla XIX. (continuación).

POBLACIONES						
Locus	BzPC	BcTA	BcBU	BzSC	BgCU	BcaBU
PGM						
(N)	18	14	14	18	16	7
A	0	0	0	0	0	1,000
B	0,111	0,107	0,071	0,139	0	0
C	0,444	0,500	0,679	0,444	0,125	0
D	0,444	0,393	0,250	0,417	0	0
E	0	0	0	0	0,813	0
F	0	0	0	0	0,063	0
SOD						
(N)	8	3	5	6	16	4
A	1,000	0	0	1,000	0	0
B	0	0	1,000	0	0	1,000
C	0	1,000	0	0	1,000	0

Tabla XX. *Bunodosoma* spp. Identidad génica, I (sobre la diagonal) y distancia génica, D (sob la diagonal) (NEI, 1978). BzPC, *B. zamponianum*, Punta Cantera; BcTA, *B. cangicum*, Tamandaré; BcBU, *B. cangicum*, Buzios; BzSC, *B. zamponianum*, Santa Clara del Mar; BgCU, *B. granuliferum*, Curaçao; BcaBU, *B. caissarum*, Buzios.

Población	BzPC	BcTA	BcBU	BzSC	BgCU	BcaBu
BzPC	*****	0,650	0,648	0,986	0,184	0,273
BcTA	0,431	*****	0,920	0,668	0,246	0,353
BcBU	0,434	0,083	*****	0,665	0,195	0,407
BzSC	0,014	0,403	0,409	*****	0,193	0,276
BgCU	1,691	1,401	1,637	1,644	*****	0,242
BcaBU	1,299	1,040	0,900	1,286	1,419	*****

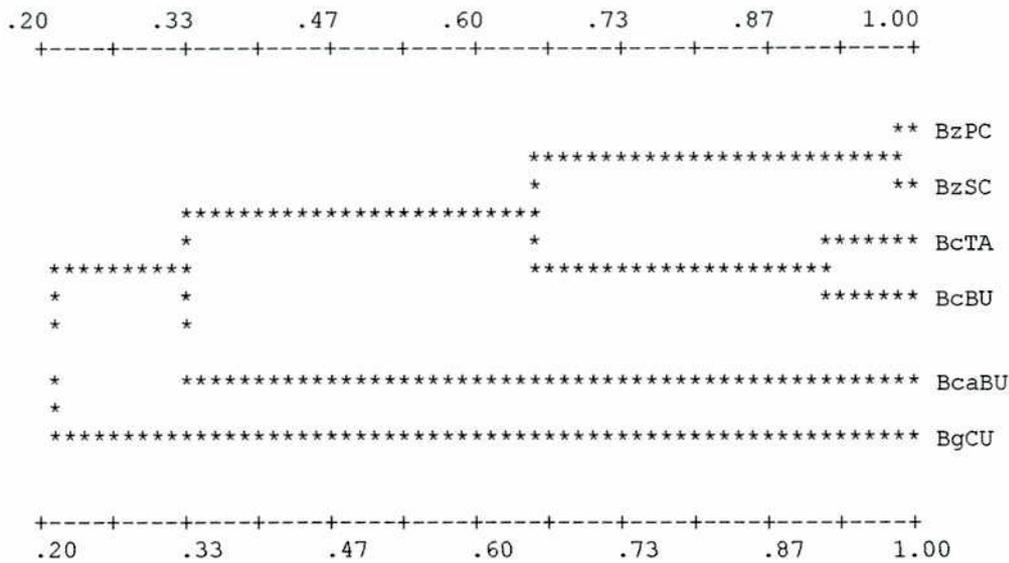


Figura 24. *Bunodosoma* spp. Dendrograma UPGMA construido sobre la base de las Identidades génicas, I (NEI, 1978) entre las poblaciones. BzPC, *B. zamponianum*, Punta Cantera; BcTA, *B. cangicum*, Tamandaré; BcBU, *B. cangicum*, Buzios; BzSC, *B. zamponianum*, Santa Clara del Mar; BgCU, *B. granuliferum*, Curaçao; BcaBU, *B. caissarum*, Buzios.

Tabla XXI. *Bunodosoma* spp. Variabilidad genética de los 22 loci en las poblaciones estudiadas. *desvío estándar entre paréntesis. BzPC, *B. zamponianum*, Punta Cantera; BcTA, *B. cangicum*, Tamandaré; BcBU, *B. cangicum*, Buzios; BzSC, *B. zamponianum*, Santa Clara del Mar; BgCU, *B. granuliferum*, Curaçao; BcaBU, *B. caissarum*, Buzios.

Población	Porcentaje de loci polimórficos	Heterocigosidad media*	
		observada	esperada
BzPC	72,7	0,340 (0,063)	0,317 (0,050)
BcTA	81,8	0,277 (0,044)	0,328 (0,053)
BcBU	72,7	0,288 (0,057)	0,297 (0,052)
BzSC	90,9	0,319 (0,053)	0,343 (0,046)
BgCU	63,6	0,268 (0,054)	0,277 (0,055)
BcaBU	59,1	0,206 (0,055)	0,252 (0,053)

5. DISCUSIÓN

Las poblaciones de *Bunodosoma cangicum* de Pernambuco se caracterizaron por poseer una mayor amplitud en el rango de los valores de casi todos los caracteres estudiados. Esto podría atribuirse al menor número de ejemplares analizados en las poblaciones de Búzios y Aracruz (12 y 7, respectivamente). No obstante, estas dos poblaciones, pese a ser numéricamente una casi el doble de la otra, no presentaron diferencias aparentes entre sí para la mayoría de los caracteres. Por esta razón, a simple vista, parecería ser que las poblaciones de Pernambuco tienen un patrón general diferente de las demás.

En la gran mayoría de los caracteres la moda difirió de la media. Como ya fue explicado anteriormente, una especie se caracteriza sistemáticamente por los valores más comunes encontrados, aunque los valores que caracterizan cada población de aquella especie sean variables. El cálculo de la moda de los principales caracteres sistemáticos de *B. cangicum* mostró que el número de mesenterios y de sifonoglifos tuvieron la misma moda en las cuatro poblaciones, con valor igual al que caracteriza a la especie. El número de tentáculos mostró una moda diferente de las demás en Piedade y Búzios; y lo mismo ocurrió con el número de *acrorhagi* en Búzios. Sin embargo, la moda calculada utilizando todas las poblaciones se mostró igual a los valores presentes en la descripción original de la especie.

De las variables que expresan la talla del animal, el diámetro de la base fue la única que tuvo las medias estadísticamente iguales en las cuatro poblaciones, demostrando ser una variable más estable ya que no presenta variaciones poblacionales. El peso húmedo presentó las mejores correlaciones con otras variables estimadoras del tamaño de los organismos. Existe una gran discusión sobre cuál es el parámetro más apropiado para estimar la talla de las anémonas. El peso seco era considerado ideal pero resultaba muy complicada su aplicación, además de presentar la desventaja de que el espécimen resulta destruido. WILLIAMS (1996) demostró la relación positiva del peso seco con el diámetro del disco pedal medido *in vivo* en *Urticina eques* (Gosse). Además, este autor comprobó que esta medida permanecía casi constante pese a variaciones ocurridas en el tamaño de otras partes del animal. Debido a dicha estabilidad, el diámetro del disco pedal *in vivo* fue utilizado en muchos estudios; sin embargo, algunos trabajos registraron diferencias en la talla de anémonas basándose en esta medida (BRACE & QUICKE, 1986; MULLER-PARKER, 1987; ACUÑA & ZAMPONI, 1995; GOMES *et al.*, 1998).

Las anémonas tienen la capacidad de modificar la forma de su cuerpo según las condiciones ambientales. Es común que las especies ubicadas en la zona intermareal asuman la forma de domo, o extiendan su columna para dirigir el disco oral hacia alguna fuente de agua remanente. Todos estos comportamientos constituyen estrategias contra la desecación y las adversidades del ambiente intertidal (DAYTON, 1971; STOTZ, 1979; CORRÊA, 1964; DUBE, 1974; GOMES *et al.*, 1998). Es posible que el diámetro del disco pedal varíe según las características del substrato o que un determinado organismo expuesto a la acción de las olas necesite distender su base ampliando así su superficie de fijación para evitar su desprendimiento. Estas observaciones muestran que las medidas tomadas *in situ* son muy posibles de sufrir variaciones. Además no fue aún verificada la existencia de una relación positiva del diámetro del disco basal *in vivo* con otras medidas como la altura de la columna o el diámetro del margen. Por otro lado, TSUCHIDA & POTTS (1994) demostraron que el peso seco está significativamente relacionado con el peso húmedo, siendo este último de utilización más práctica, además de no necesitar la destrucción del animal. De esta forma, estos autores sugieren que este parámetro es el más apropiado para medir los cambios en el tamaño del cuerpo de las anémonas. En coincidencia con esto, como se mencionó anteriormente, el peso húmedo fue el carácter que, en el presente trabajo, mostró las mejores correlaciones positivas con todas las otras variables relacionadas con la talla de los animales. El diámetro del disco pedal, medido después de la fijación, presentó el valor más alto de correlación con el peso húmedo, pero este resultado no fue estadísticamente significativo. WILLIAMS (1996) afirmó que el diámetro del disco basal en especímenes preservados, previamente anestesiados, podría también ser utilizado en la estimación del tamaño de las anémonas; sin embargo el presente estudio muestra que este parámetro no es representativo de las otras medidas de la talla de estos organismos. Quizás la estabilidad de esta medida, que presentó medias iguales en todas las poblaciones, se haya debido a la anestesia previa a la fijación, la que, de alguna forma, disminuyó las posibles diferencias entre los valores.

En conclusión, teniendo en cuenta los datos obtenidos en el presente estudio, el peso húmedo sería el parámetro más representativo del tamaño de la anémona. Esto coincide con la opinión de CHINTIROGLOU & SIMSIRIDOU (1997).

El número de vesículas pareció tener un patrón de distribución de los valores, en las cuatro poblaciones, similar al de las variables relacionadas a la talla, pero no se relacionó de forma significativa con los demás factores.

Las medidas del largo y ancho del esfínter se encontraron relacionadas entre sí y presentaron medias similares en todas las poblaciones. Esto indica que se trata de caracteres muy estables siendo poco afectados por las condiciones ambientales. Además se mostraron independientes de todos los demás caracteres, incluyendo la talla del individuo. Como el material fue siempre anestesiado antes de la fijación, es probable que las medidas de los esfínteres no se vieran demasiado afectadas por el estado de contracción de los ejemplares. Diversos trabajos estudiaron el esfínter de *B. zamponianum* (considerada *P. clematis*) y encontraron diferencias morfológicas y fisiológicas según la ubicación del animal en lugares más expuestos o más protegidos, además de mostrar formas de transición en áreas parcialmente protegidas (PATRONELLI *et al.*, 1987). Estos autores muestran que las condiciones ambientales, en especial el impacto de las olas o la desecación, exigen un mayor desarrollo muscular para garantizar un mayor poder de contracción al animal. Esto ocasiona cambios morfológicos, en lo que se refiere a la ramificación y al espesor del eje mesogleal, y cambios fisiológicos en la velocidad de respuesta de contracción, pero parece no influir en la talla.

La talla de los cnidocistos tuvo medias estadísticamente iguales en las poblaciones, resultado que difiere de otros estudios en que estas estructuras presentaron variación clinal o diferencias en su talla asociada a la presencia de razas ecológicas (ZAMPONI & ACUÑA, 1991; ACUÑA & ZAMPONI, 1997)

El número de tentáculos, el diámetro de los *acrorhagi* y el número de *acrorhagi* no presentaron la misma media en todas las poblaciones. Para los dos primeros caracteres la población de Buzios mostró las mayores diferencias, con la media del número de tentáculos inferior a las demás, y la media del diámetro de los *acrorhagi* mayor. En la población de Tamandaré, hubo una gran amplitud de variación en el número de tentáculos, así como en el número de mesenterios. Esto se debió al registro de un único ejemplar con 196 tentáculos e igual número de mesenterios. Si este individuo fuera eliminado de las muestras, el rango de variación de los valores de estos caracteres sería similar a los encontrados en Piedade. Por otro lado, el número de *acrorhagi*, que también se mostró variable entre las poblaciones, tuvo medias diferentes en todas las localidades y, en general, se registraron grandes desvíos, principalmente en las poblaciones de Pernambuco. En realidad, aunque los *acrorhagi* son comúnmente utilizados en las diagnósticos de las especies, es sabido que, por tratarse de estructuras defensivas que se encuentran en el margen de la columna, su presencia y

características parecen depender de algunos factores ambientales. UCHIDA (1940) observó, en acuario, que la especie *Anthopleura xanthogrammica* (Brandt, 1835) presentaba *acrorhagi* de mayor tamaño que los de los ejemplares hallados en su estado natural. HAND (1955) y UCHIDA & MURAMATSU (1958) encontraron *acrorhagi* solamente en los individuos más longevos de *Anthopleura elegantissima*. También CORRÊA (1964) observó que estas estructuras pueden estar presentes o ausentes en adultos de *Anthopleura cascaia* Corrêa en Dube, 1977. Un fenómeno similar ocurre con otra estructura que también tiene función defensiva, los llamados “catch tentacles”, cuya presencia parece estar relacionada con el medio externo (HAND, 1955; RIEMANN ZURNECK, 1969).

De esta forma, se puede constatar que de los 14 caracteres estudiados, siete no presentaron la misma media en las cuatro localidades y, para estos, la población de Búzios se mostró la más diferente de las demás, indicando la presencia de posibles ecotipos o razas ecológicas entre estas localidades.

Las playas de Tamandaré y Piedade tienen el mismo tipo de substrato y condiciones ambientales similares. La principal diferencia entre ellas es que la última sufre fuerte acción antrópica pero, considerando los caracteres estudiados, esto pareciera no haber causado ninguna diferencia significativa entre las poblaciones. En Aracruz las condiciones ambientales no son muy diferentes de las playas pernambucanas. El substrato también está compuesto de arrecifes formados por la cementación de arena y componentes biogénicos y, en esta localidad, con alto contenido de hierro (arrecifes ferruginosos). La temperatura del agua es un poco menor que en Pernambuco (20 a 28°C en Espírito Santo y de 22 a 30°C en Pernambuco). Pese a esto, los ejemplares de las dos localidades parecen formar parte de una misma población sin grandes diferencias morfológicas, salvo en lo que se refiere a valores más bajos del peso húmedo de los individuos y menor dispersión en los demás caracteres. Por otro lado, la playa de Tartaruga en Búzios representa el ambiente que difiere en mayor grado de las otras localidades, debido al substrato rocoso. Esta playa está ubicada en la costa noroeste de la península de Búzios donde no recibe mucha influencia de la corriente de Malvinas y, por esta razón, la temperatura media del agua no es muy diferente de la registrada en Aracruz. A pesar de esto, los estudios morfológicos mostraron que la población de Búzios presenta diferencias significativas con las otras dos poblaciones.

PÉREZ (1992) y ACUÑA (1993) explicaron la presencia de ecotipos distintos de *B. zamponiamum* (llamada *P. clematis*) en las playas de Santa Clara del Mar y Punta Cantera, en

Argentina, debido a diferencias en el tipo de substrato y en la moda de los dos lugares. En Punta Cantera, con substrato más duro y moda agitada, los ejemplares fueron menores. Si consideramos que esta fue la causa real de dicha variación y que esto representaría una tendencia en las anémonas de mar intermareales, la población de Búzios (substrato rocoso) debería ser diferente de las demás (ubicadas en arrecifes con menor dureza), presentando una talla menor. En efecto, los resultados obtenidos muestran que la población de Búzios presentó una talla (altura, diámetro del margen y peso húmedo) menor que las poblaciones de las dos localidades pernambucanas. Sin embargo, los ejemplares de Aracruz se mostraron aún menores. Este hecho podría deberse a que todos los ejemplares estudiados en Aracruz se encontraban sin gónadas. Aunque el presente estudio no reveló una correlación significativa entre la talla y el estado sexual del individuo, EXCOFFON & ZAMPONI (1991) observaron que los menores valores del diámetro del disco pedal correspondían a individuos estériles de *B. zamponianum* (considerada *P. clematis*). Los ejemplares sin gónadas son predominantes en la clase de talla entre 1,0 y 1,9 cm de diámetro basal, representando a los estados juveniles. Ejemplares estériles con diámetro basal mayor a 2,0 cm correspondieron a individuos postdesovantes en reposo. Sólo fueron encontrados individuos fértiles con diámetros mayores a 1,5 cm y las hembras alcanzaron las mayores tallas. Si bien pareciera haber cierta relación entre la talla del individuo y el desarrollo de las gónadas, en el presente trabajo el estado sexual no se mostró relacionado con ninguno de los caracteres estudiados, aunque los mayores valores se encontraron con el peso húmedo y la altura de la columna. Es probable que esto se deba a la ausencia de muestreos estacionales. Es sabido que el desarrollo de las gónadas en las anémonas de mar no se da de forma continua y pareja a lo largo de todo el año. En *B. cangicum* no hay estudios realizados en este aspecto, pero otras especies del género ya fueron estudiadas. *B. caissarum* en Rio de Janeiro presenta una gametogénesis continua, pero la mayor cantidad de individuos maduros se encuentra en otoño o invierno. Asimismo, la especie *B. zamponianum* libera las gametas entre diciembre y febrero aunque se encontraron ocasionalmente individuos que las liberaban en invierno. En esta estación del año se presentó el mayor porcentaje de individuos en período de gametogénesis, con gametas en estadios iniciales de desarrollo (EXCOFFON & ZAMPONI, 1991). Los datos de *B. cangicum* analizados corresponden a muy pocos individuos colectados en el invierno, pero todos los ejemplares de *B. cangicum* provenientes de Aracruz fueron colectados en esa estación. Este material resultó 100% estéril. Asimismo, el único lote de individuos colectado en Tamandaré en invierno, presentó 100% de esterilidad. En un estudio previo, GOMES (datos no publicados)

encontró gónadas en individuos de *B. cangicum* de Tamandaré con diámetro del disco pedal, después de anestesia y fijación, a partir de 1,0 cm. De esta forma, los individuos con el diámetro de disco igual o superior a 1,0 cm serían considerados adultos. En Aracruz, la medida de la base en las anémonas varió de 0,7 cm (sólo un ejemplar) hasta 2,4 cm, en un muestreo aleatorio. Sin embargo, la pequeña cantidad de individuos analizados para el lugar dificulta cualquier especulación sobre el tema.

Considerando todo lo expuesto, es probable que la menor talla de los ejemplares provenientes de Aracruz fuera causada por el estado sexual, faltando saber aún si se trataban de juveniles o adultos en estado de reposo. Solamente un estudio detallado de la biología reproductiva de esta especie podrá esclarecer la cuestión. Por los datos aquí presentados no se puede establecer ninguna relación entre el sexo y la talla de estos animales o estimar los períodos reproductivos de los mismos.

De la comparación de los resultados del presente trabajo con los obtenidos en los estudios realizados con la especie *B. zamponianum*, se observa que solamente el número de filas de vesículas (sin diferencias significativas entre las localidades), el número de vesículas por fila (con diferencias significativas) y la talla de las anémonas (con diferencias significativas) tuvieron resultados equivalentes en ambos estudios. Todos los demás caracteres presentaron resultados diferentes en Brasil y en Argentina. Entre todos los caracteres que presentaron medias diferentes entre las poblaciones, estaban casi todas las variables relacionadas a la talla del individuo (altura, diámetro del margen y peso húmedo). Además, el número de vesículas por fila también fue significativamente diferente entre las poblaciones en ambos estudios. Este carácter mostró una correlación positiva con la altura de la columna ($r=0,55$). Aunque ésta no puede ser considerada una buena correlación, indica que, por lo menos una pequeña proporción de la variabilidad del número de vesículas por fila, podría estar determinada por la altura de la columna (índice de determinación $r^2=0,30$). De esta forma, cualquiera que sean los factores ambientales que influyan en la formación de los ecotipos en las poblaciones de *B. cangicum* en Brasil y *B. zamponianum*, estos estarían afectando directamente a la talla de los individuos y a los caracteres relacionados con ella. Según lo sugerido por PÉREZ (1992) y ACUÑA (1993), las causas podrían estar relacionadas con la moda y/o con la dureza del substrato. En todas las localidades brasileñas donde fue colectado el material, la moda es calma, pero el substrato no fue el mismo, con mayor dureza en Búzios. Es poco probable que las características intrínsecas del substrato actúen directamente sobre todos los caracteres relacionados con la talla de los

organismos. Debe tenerse en cuenta que el tipo de substrato condiciona el tipo de fauna y flora en el lugar; lo cual, a su vez, influye directamente sobre las anémonas en dos aspectos: competición y alimentación. Las anémonas compiten por el substrato con otros organismos bentónicos y la capacidad de aumentar su talla está directamente asociada con la disponibilidad de espacio. De esta forma, el tipo de fauna acompañante puede influir no sólo en la talla de los individuos sino también en otros caracteres que presentaron diferencias significativas entre las poblaciones, como el número y el diámetro de los *acrorhagi*, que son estructuras defensivas y de agresión fundamentales en la lucha por el espacio. Por otro lado, la fauna acompañante de las anémonas representa su fuente principal de presas, especialmente en lugares con moda agitada, que ocasiona el desprendimiento de organismos que quedan disponibles para las anémonas. En los estudios realizados por ACUÑA & ZAMPONI (1996) se demostró que la principal presa de las anémonas de mar en Punta Cantera y Santa Clara del Mar (Argentina) era el mitilido *Brachydontes rodriguezii*, el representante más abundante de la fauna bentónica de la zona. Sin embargo, estos autores no encontraron diferencias cualitativas ni cuantitativas en la disponibilidad de alimento en las dos playas que pudieran explicar la diferencia encontrada en las tallas de las anémonas en ambas localidades. La materia orgánica (ACUÑA, 1993) y los parámetros físicos (OLIVIER *et al.*, 1970) también son similares en las áreas estudiadas. El hecho de que los mayores ejemplares fueron encontrados en Santa Clara del Mar, donde la moda es calma, y en lugares protegidos, indicaría que el estrés fisiológico (ACUÑA, 1993) sería el único factor que podría justificar las diferencias en la talla de *B. zamponianum*.

En el presente estudio, la existencia de ecotipos en las poblaciones brasileñas de *B. cangicum* no puede ser explicada por diferencias en la moda de las playas. Quizás otro factor de estrés, o alguna variable relacionada con la disponibilidad de alimento, que a su vez depende del tipo de substrato, sea la verdadera causa de la formación de estos ecotipos. De hecho, aunque ACUÑA & ZAMPONI (*op. cit.*) no encontraron relación entre la talla de la presa y la talla de *B. zamponianum* (predador), estudios realizados por SEBENS (1981) con la especie *Anthopleura xanthogrammica* revelaron que las tallas de la presa y del predador están positivamente relacionadas. Las anémonas de mar constituyen un grupo de organismos muy plásticos y muy adaptables a diferentes condiciones ambientales, especialmente en la zona intermareal donde la presión del ambiente es mayor. Por esta razón estos organismos presentan una variabilidad fenotípica muy grande que dificulta fijar parámetros generales dentro de una misma especie. Hay una gran variedad de factores que podrían ser sugeridos para explicar la presencia de ecotipos,

sin embargo, son necesarios más estudios, en especial con la especie *B. cangicum*, para que sea posible determinar la verdadera causa de las diferencias observadas. De esta forma, se puede concluir que las variaciones en las especies de Brasil y Argentina no siguen un mismo patrón y, probablemente, no tengan las mismas causas. Es válido resaltar que las diferencias no parecen tener relación con la distancia geográfica entre las poblaciones ya que en Argentina se identificaron ecotipos diferentes en poblaciones distantes unos pocos kilómetros (no más de 50 km); mientras que en Brasil, la población de Aracruz se mostró similar a las de Pernambuco, distantes cerca de 3.000 km, y distinta de la de Búzios ubicada a 500 km aproximadamente.

Los valores de identidad génica (I) entre las poblaciones de la especie argentina y las de *B. cangicum* se encuentran dentro del rango esperado para especies cogenéricas pero no coespecíficas. Los valores de I pueden ser taxonómicamente útiles, como fue discutido por TORPHE (1982, 1983) y NEI (1987) (THORPE & SOLÉ-CAVA, 1994). Las poblaciones alopátridas coespecíficas normalmente tienen valores de I mayores que 0,85, mientras que especies de un mismo género pueden variar de 0,35 a 0,85 (THORPE, 1982). Esto constituye un apoyo para los estudios morfológicos que concluyeron que la especie de Argentina pertenece al género *Bunodosoma*. Además, la comparación de esta especie con las demás del género presentes en Brasil y en Uruguay revelaron que es distinta y genéticamente más similar a *B. cangicum*, lo que también confirmaron los estudios morfológicos. Lo más interesante de los resultados genéticos es que respaldan la validez taxonómica de las especies brasileñas *B. cangicum* y *B. caissarum*. Esta última, endémica de Brasil, tiene caracteres morfológicos que la diferencian claramente de las demás especies del género, como el gran número de tentáculos (alrededor de 200) y la presencia de cinco ciclos de mesenterios. La única especie con caracteres similares es *B. goanensis* de Hartog & Vennam, 1993 descrita para Goa (India). DEN HARTOG & VENNAM (1993) compararon dicho material con *B. caissarum* de Rio de Janeiro y concluyeron que se diferenciaban principalmente en la disposición de las gónadas. Por otro lado, la especie *B. cangicum* tiene algunas características morfológicas muy similares a otras especies del género, inclusive a representantes del Caribe que, debido a la proximidad con Brasil, podrían tratarse de la misma especie. Una de estas especies es *B. granuliferum* que se distribuye por toda la región antillana; la cual posee igual cantidad de tentáculos, mesenterios, *acrorhagi*, ciclos de *acrorhagi*, y disposición gonadal que *B. cangicum*. Las principales diferencias entre ambas son el número de ciclos de mesenterios y la presencia de bandas en la columna de la especie caribeña. Sin embargo, estas especies se mostraron claramente diferenciadas por los

análisis genéticos, con valores de I muy bajos (0,19-0,24). De la misma forma, la nueva especie, *B. zamponianum*, presenta como diferencia principal con *B. cangicum* el número de ciclos de mesenterios (4 y 3 respectivamente), y también ambas fueron diferenciadas por los análisis genéticos, , más cercanas entre sí que con *B. caissarum* y *B. granuliferum*.

El género *Bunodosoma* es muy constante en algunos caracteres para todos sus representantes, como el número de ciclos y número total de *acrorhagi* (dos ciclos de 48 *acrorhagi* cada uno); número de sifonoglifos (dos); número de tentáculos (96 en la mayoría de las especies); número de ciclos de tentáculos (cuatro o cinco); tipo de esfinter (siempre circunscripto); vesículas en toda la columna y número de mesenterios (96 para la mayoría de las especies). En el cnidoma también se observa la misma regularidad, con los mismos tipos en *acrorhagi* y tentáculos para todas las especies, variando sólo sus tallas. La diferencia del cnidoma entre especies distintas consiste normalmente en la presencia o ausencia de dos o tres tipos de cnidocistos en otras estructuras, como columna o filamento.

Los elevados valores de I encontrados entre las poblaciones de *B. zamponianum* de Punta Cantera y Santa Clara del Mar (distantes 50 km), y entre las poblaciones de *B. cangicum* de Tamandaré y Búzios (distantes 3500 km), están de acuerdo con los valores encontrados en poblaciones de otras especies del género. RUSSO & SOLÉ-CAVA (1991) encontraron una elevada identidad génica entre poblaciones de *B. caissarum* distantes 180 km una de la otra. Lo mismo fue observado en poblaciones de *B. cavernata* y *B. granuliferum* del Golfo de México (McCOMMAS & LESTER, 1980; McCOMMAS, 1982). Estos elevados valores de I indicarían que estas especies tendrían una alta tasa de dispersión o una pequeña tasa de divergencia. Estudios de la biología de *B. caissarum* revelaron que su larva tiene gran capacidad de dispersión (larva pelágico-planctotrófica) (BELÉM, 1987). No existen estudios realizados sobre la biología reproductiva de *B. cangicum*, ni es conocido su tipo larval. La larva de *B. zamponianum* es del mismo tipo que la de *B. caissarum*, llegando a vivir cinco días en el plancton, lo que aumenta su capacidad dispersora. Los valores de I demuestran un libre flujo génico entre las dos poblaciones argentinas. Sin embargo, el análisis de sólo dos poblaciones cercanas geográficamente (50 km), no permite realizar especulaciones sobre la genética poblacional de esta especie. Todavía, por lo menos de una forma preliminar, los datos indican que tanto las poblaciones de *B. cangicum* de Tamandaré y Búzios, como las de *B. zamponianum* de Punta Cantera y Santa Clara del Mar forman parte de una misma unidad o "pool" génico en cada especie. Esto significa que no existe ninguna razón para creer que haya una diferenciación genética respaldando las variaciones

fenotípicas encontradas (ecotipos). De esta manera, las diferencias morfológicas deberían ser consideradas solamente como variación morfológica resultante de la plasticidad fenotípica intrínseca de la especie, coincidiendo con PÉREZ (1992) y ACUÑA (1993). Sin embargo, es notoria la alta variabilidad genética que acompaña a esta plasticidad. En general las variaciones fenotípicas en una especie indican la presencia de un “pool” génico suficientemente diverso para proporcionar las diferencias en el fenotipo, pero sin alterar la capacidad reproductiva entre las poblaciones.

Las anémonas de mar en general poseen una elevada variabilidad genética, lo que puede facilitar la especiación en este grupo (SOLÉ-CAVA & THORPE, 1992; PERRIN *et al.*, 1999). Esto es debido a la tendencia que sugiere una relación positiva entre la heterocigosidad de los *loci* y sus tasas de divergencia (SKIBINSKI & WARD, 1981; WARD & SKIBINSKI, 1985) y, consecuentemente, especies con mayor variabilidad genética quizás evolucionen más rápido que especies menos polimórficas.

Entre las especies estudiadas, *B. cangicum* y *B. zamponianum* presentaron la mayor variabilidad genética, con gran porcentaje de *loci* polimórficos y elevados valores de heterocigosidad esperada. Esto lleva a una serie de consideraciones. La hipótesis de la extensión del nicho (“niche-width”) (VAN VALEN, 1965) supone una correlación positiva entre la extensión del nicho y el nivel de diversidad genética en un organismo. Si esta hipótesis fuera verdadera, se esperaría que especies con mayor variabilidad genética tuvieran nichos ecológicos más amplios; lo cual se manifestaría en una mayor distribución vertical de las especies y la ocupación de una mayor cantidad de microambientes. Esto podría ocurrir en ambas especies, ya que ambas son características del intermareal pudiendo extenderse hasta el inicio del infralitoral. La zona entre mareas se caracteriza principalmente por la existencia de gran variedad de microambientes y por el fuerte estrés al cual son sometidos los organismos, tanto debido al impacto de las olas como a la exondación. NOY *et al.* (1987) observaron en moluscos de la familia Littorinidae que grupos genéticamente más heterogéneos estaban en lugares más altos del litoral, donde las fluctuaciones ambientales son mayores. Fue observado que *B. zamponianum* y *B. cangicum* ocupan diferentes microambientes, presentando diferencias en la talla y abundancia entre ellos (ACUÑA & ZAMPONI, 1995; GOMES *et al.*, 1998). Es probable que exista una interacción bidireccional entre genoma y medioambiente, y que la deriva y selección jueguen roles diferentes durante la evolución de cada grupo de organismos (WRIGHT, 1978; LEVINS & LEWONTIN, 1985; RUSSO & SOLÉ-CAVA, 1991). Las especies *B. granuliferum* y *B.*

caissarum presentaron un menor porcentaje de *loci* polimórficos y valores de heterocigosidad esperada más bajos, lo que indicaría una mayor estabilidad genética de las mismas. Sin embargo, algunas consideraciones deben realizarse con respecto a *B. caissarum*. El valor de heterocigosidad (H) de la población estudiada fue de 0,252. Este valor, pese a ser el más bajo dentro de la cuatro especies, es alto comparado con los de otros organismos marinos. RUSSO & SOLÉ-CAVA (1991) observaron valores de H entre 0,284 y 0,299 para la misma especie en la costa de Río de Janeiro. En otro estudio realizado en Brasil con un rango geográfico más amplio (alrededor de 1150 km), el valor de H para esta especie fue más elevado (H= 0,35) (RUSSO *et al.*, 1994). De esta forma, es probable que el valor de H encontrado en el presente trabajo resultara inferior debido al pequeño número de muestras analizadas (12 individuos). Todos estos valores indican un alto nivel de variación en *B. caissarum* comparable con los encontrados en otras especies de anémonas (McCOMMAS, 1982; BUCKLIN, 1985; SOLÉ-CAVA & THORPE, 1987, 1989; SHAW *et al.*, 1987; SMITH & POTTS, 1987). Esta alta variabilidad probablemente sea explicada por factores no relacionados con la variación en los nichos ecológicos, en la distribución vertical o con el estrés ambiental. Esta especie puede ser encontrada en la zona intermareal, con una mayor abundancia en la zona infralitoral donde forma grandes y extensas poblaciones con una densidad muy elevada (>100 individuos/m²) (RUSSO *et al.*, 1994). Además, es abundante en localidades contaminadas (GOUVEA *et al.*, 1985, 1989), lo que debe estar relacionado con la gran resistencia a la anoxia que presenta (ELLINGTON, 1982), así como al estrés osmótico (HOWARD *et al.*, 1987). Puede ser que la variabilidad genética de esta especie esté asociada a su presencia en áreas contaminadas, ya que NEVO *et al.* (1984) consideran que la variabilidad puede ser adaptativa. Esta relación entre variación genética y niveles de contaminación no fue confirmada para ciertos organismos bentónicos (FEVOLDEN & GARNER, 1986), razón por la cual RUSSO & SOLÉ-CAVA (1991) sugieren que las explicaciones alternativas basadas solamente sobre el gran tamaño poblacional (KIMURA, 1983) no deben ser descartadas. El problema de diferenciar las explicaciones seleccionistas, como la de extensión de nichos de VAN VALEN (1965), y las neutralistas como la de la estabilidad del tamaño efectivo de población de KIMURA (1983), es una de las razones que dificultan la conclusión acerca del origen de la variabilidad genética en poblaciones naturales (SOLE-CAVA & THORPE, 1991).

Considerando que la elevada heterocigosidad en *B. caissarum* podría contribuir a su adaptación a diferentes nichos, que poblaciones geográficamente distantes son muy homogéneas

genéticamente y que la especie presenta una larva planctotrófica de gran dispersión, se podría esperar una amplia distribución de la especie. No obstante, *B. caissarum* tiene una distribución más limitada en comparación con *B. cangicum*, habiendo sido registrada desde Rio Grande do Sul hasta Espírito Santo y en el Archipiélago de Fernando de Noronha (Brasil). Es difícil precisar las razones por las cuales esta especie llega a este archipiélago oceánico (distante 345 km de la costa de Rio Grande do Norte) y no se dispersa a otros estados más al norte que el estado de Espírito Santo. Esta acotada distribución puede estar relacionada a una preferencia por determinado substrato, ya que esta especie presenta las mayores abundancias en substrato rocoso, el cual no es continuo en la costa brasileña; o a otras condiciones ambientales, en especial la temperatura de agua. Es importante resaltar que esta especie es muy homogénea morfológicamente. El análisis de los mismos caracteres estudiados en *B. cangicum* reveló resultados casi constantes en todos los ejemplares. Quizás esto tenga alguna relación con el hecho de que la especie sea la que posee el menor porcentaje de *loci* polimórficos en el presente estudio, con nueve de los 22 *loci* monomórficos.

Sea cual fuere la razón de la pequeña distribución geográfica de *B. caissarum*, queda claro que se encuentra mucho más distanciada genéticamente de las especies *B. cangicum* y *B. zamponianum*, que estas dos últimas entre sí; lo mismo ocurre con *B. granuliferum*. La no inclusión de un grupo externo en los análisis filogenéticos imposibilita el enraizamiento del árbol, de manera que no se puede precisar cuál especie está más alejada de la demás, pudiendo ser artificial la disposición, en el cladograma, de la especie *B. granuliferum*. De todos modos, tanto desde el punto de vista morfológico como del genético, existen indicios de que *B. cangicum* y *B. zamponianum* son especies muy próximas entre sí, que probablemente divergieron hace relativamente poco tiempo (de 0,9 a 8,7 millones de años, empleando los valores mínimo y máximo de divergencia en la hipótesis del reloj molecular para alozimas; NEI, 1987). Ya que ambas presentan características morfológicas, fisiológicas, ecológicas y hasta de comportamiento similares, además de ocupar el mismo nicho ecológico en Brasil y Argentina, es probable que estas especies sean vicariantes. El hecho de que *B. cangicum* tenga una distribución tan amplia en la costa brasileña (alrededor de 6000 km) y también en Uruguay, lleva a creer en la existencia de una barrera para la dispersión larval, justificando el aislamiento de estas especies. El ambiente marino no es homogéneo, presentando barreras al flujo génico. Muchas barreras físicas como corrientes, temperatura y salinidad pueden impedir la migración de larvas o gametas (PALUMBI, 1992). De esta manera, la dispersión es el principal factor que actúa en la

diferenciación genética de poblaciones geográficamente separadas y, por esto, la capacidad de dispersión es considerada como el principal factor que influye en la estructuración genética de las poblaciones marinas (OLSON, 1985; LESSA, 1990; HANSSON, 1991; BERTNESS & GAINES, 1993). El cosmopolitismo en animales marinos bentónicos puede ser mucho menor de lo que se creía originalmente (KNOWLTON, 2000). La idea de que el ambiente marino está desprovisto de barreras, de modo que las larvas planctónicas serían las responsables de una distribución amplia y las larvas planctotróficas tendrían una mayor capacidad dispersora que las lecitotróficas (JABLONSKI & LUTZ, 1983), parece no ser tan verdadera, al menos para algunos grupos de organismos.

No obstante, debe ser considerado que, en especies marinas, la dispersión no está solamente relacionada con factores externos como corrientes de agua, sino también con características intrínsecas de la especie como el modo reproductivo (JACKSON, 1986), vagilidad y viabilidad de las gametas (GROSBERG, 1991) y tipo y movilidad de las larvas (SCHELTEMA, 1989) y adultos (CHADWICK & ADAMS, 1991). Por otro lado PALUMBI *et al.* (1997) consideran que la dispersión larval y las barreras genéticas entre poblaciones de animales marinos son normalmente difíciles de discernir, y los factores físicos y biológicos que determinan los patrones de flujo génico entre poblaciones marinas son pobremente entendidos. En el mismo trabajo se propone que las barreras físicas para la migración larval son raras en sistemas marinos, y que una serie de otros factores deben ser considerados (selección, rutas migratorias estables, patrones comportamentales de las larvas, etc.). Además, es posible que inclusive especies altamente dispersivas tengan un límite práctico de dispersión, y que los rangos de distribución sean lo suficientemente grandes para provocar el aislamiento por distancia jugando un rol importante en la diferenciación poblacional y especiación.

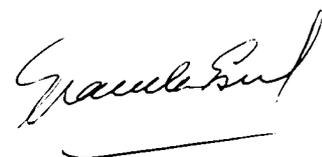
Sería lógico pensar que actualmente la razón más obvia de la ausencia de flujo génico entre las especies *B. cangicum* y *B. zamponianum* sea el estuario del Río de la Plata. VIOLANTE & PARKER (1999) afirman que el Río de la Plata se formó hace unos 2,4 M.a. por procesos geomorfológicos de captura de las antiguas vías de drenaje del río Paraná, que originalmente desaguaba hacia la cuenca del Salado, por parte de un colector pericratónico que fluía bordeando el macizo uruguayo. Esto indica que la formación del Río de la Plata y de su estuario pueden haber sido el efecto vicariante que actuó en el aislamiento de las especies ya que, como fue mencionado antes, ellas divergieron hace aproximadamente entre 0,9 y 8,7 M.a., lo que coincide con la época de formación del estuario. El área estuarina de este río presenta un

ambiente particularmente variable, entre las aguas dulces y marinas. El río forma una inmensa cuenca, que de no existir el aporte de los ríos tributarios estaría ocupada por el mar, como lo ha sido en el Cenozoico, formando un golfo marino (BOSCHI, 1988). Debido a las características hidrográficas del estuario y a la alta sedimentación que acarrea, el Río de la Plata constituye una barrera para la dispersión de los cnidarios bentónicos en la dirección norte-sur y viceversa (ZAMPONI *et al.*, 1998); aunque algunas especies de actiniarios como *Trinidactis errans* Pires, 1988 y *Anthotoe chilensis* (Lesson, 1830) logran sobrepasar dicha barrera, quizás debido a una posible capacidad de osmorregulación o a una distribución bentel de aguas profundas por fuera del sector externo del estuario (ZAMPONI, 2000). En el caso de *B. cangicum* y *B. zamponianum*, pareciera que estas especies no tuvieran larvas con tal capacidad de distribución, ya que las diferencias genéticas y morfológicas encontradas en el presente trabajo, permiten concluir que están aisladas reproductivamente. Estas especies nunca fueron registradas formando parte de incrustaciones (en barcos u objetos flotantes) lo que lleva a creer que la dispersión sólo depende de la larva. Como fue discutido anteriormente, la larva de *B. zamponianum* pasa un tiempo relativamente largo en el plancton, lo que podría permitir la ocupación de otros lugares más distantes. Además, estas especies no demuestran poseer grandes exigencias en cuanto al tipo de substrato, en especial *B. cangicum*, ya que ha sido encontrada fijada a una gran variedad de substratos duros como rocas, espigones y arrecifes. Pese a todo, ambas especies se encuentran aisladas, por lo que no existiría una distribución bentel profunda, siendo el Río de la Plata una verdadera barrera para su dispersión.

6. CONCLUSIONES

- El status taxonómico de *Phymactis clematis*, sensu Zamponi, 1977 citada en varias localidades de la provincia de Buenos Aires, Argentina, fue revisado y modificado, creando una nueva especie: *Bunodosoma zamponianum*.
- *B. zamponianum* es muy similar morfológicamente a *Bunodosoma cangicum*, especie presente en Brasil y Uruguay, difiriendo de ésta en el número de mesenterios (4 en *B. zamponianum* y 3 en *B. cangicum*), y en algunos aspectos del cnidoma.
- Estudios morfológicos realizados sobre cuatro poblaciones de *B. cangicum* en Brasil, ubicadas en Piedade y Tamandaré (Pernambuco); Búzios (Rio de Janeiro) y Aracruz (Espírito Santo), revelaron que siete de los 14 caracteres estudiados presentaban diferencias en las medias de las cuatro localidades.
- Los caracteres no estables fueron: número de vesículas por fila, número de tentáculos, número de *acrorhagi*, diámetro de los *acrorhagi*, peso húmedo, altura de la columna y diámetro del margen.
- Las dos poblaciones de Pernambuco fueron morfológicamente similares a la de Aracruz, mientras que la de Búzios fue distinta de las demás, indicando la presencia de ecotipos diferentes.
- Estudios previos realizados en Argentina con la especie *B. zamponianum* revelaron la existencia de ecotipos entre las poblaciones de Santa Clara del Mar y Punta Cantera (Mar del Plata), pero los caracteres que variaron y los patrones de variación no fueron similares a los del presente estudio.
- Las principales diferencias en los ecotipos, en Brasil, se relacionaron con la talla de los individuos (altura, diámetro del margen, peso húmedo y número de vesículas por fila, carácter, este último, que depende en cierto grado de la altura de la columna).
- La razón de la existencia de ecotipos en las poblaciones brasileñas de *B. cangicum* es difícil de precisar, es probable que esté relacionada con el substrato rocoso presente sólomente en Búzios.

- Las diferencias en el substrato influiría sobre la talla de los individuos debido a las diferencias en la fauna acompañante con la que las anémonas mantienen interacciones competitivas y alimentarias.
- El peso húmedo fue el carácter que mejor se relacionó con las demás variables estimadoras de la talla de los individuos (altura, diámetro de la base y diámetro del margen).
- El largo y el ancho del esfínter también estuvieron relacionados positivamente, pero con valores independientes de la talla del animal.
- Todos los demás caracteres se mostraron poco correlacionados entre sí.
- El diámetro basal fue el único carácter estimador de la talla estable en todas las localidades.
- El análisis genético, a través de la electroforesis de aloenzimas, confirmó que las especies *B. zamponianum* y *B. cangicum* son cogenéricas.
- La comparación genética de *B. zamponianum* con las otras especies del género presentes en Brasil y Uruguay (*B. cangicum*, *B. caissarum* y *B. granuliferum*), reveló que esta especie es diferente de todas las demás y más cercana genéticamente a *B. cangicum*.
- Los valores de heterocigosidad fueron elevados para todas las especies, pero mayores en *B. zamponianum* y *B. cangicum*.
- La menor variabilidad se registró en *B. caissarum*, con el menor porcentaje de loci polimórficos, lo que podría tener relación con una mayor estabilidad morfológica y algunas limitaciones en la distribución geográfica de esta especie.
- Los análisis morfológicos y aloenzimáticos, mostraron que *B. zamponianum* y *B. cangicum* se encuentran muy cercanas filogenéticamente indicando que la divergencia debe haber sido reciente.
- La época de la formación del estuario del Río de la Plata (2,41 M.a.) coincide con el tiempo calculado de divergencia entre las dos especies (0,9-8,7 M.a.) indicando que, probablemente, éste haya sido el evento vicariante que dio origen a la diferenciación de las mismas, conformando actualmente una barrera para la dispersión de las larvas.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUÑA, F.H. 1993. **Ecología poblacional de las principales especies de actinarios (Cnidaria: Anthozoa) del intermareal marplatense y zonas adyacentes.** Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, 163 pp.
- _____ 1995 (1997). Presencia de *Phelliactis cf. lophophelia* Riemann-Zürneck, 1973 (Actiniaria, Hormathiidae) en aguas de las islas Georgias del Sur. **Physis, Secc. A**, 53 (124-125): 6.
- ACUÑA, F.H. y ZAMPONI, M.O. 1992 (1995). Contribución al conocimiento ecológico de *Sphincteractis sanmatiensis* Zamponi, 1976 (Cnidaria: Corallimorpharia) de los Golfos Nuevo y San Matías (República Argentina). **Physis, Secc. A**, 50(118-119): 21-24.
- _____ 1995. Ecología de anémonas intermareales. Densidad, Dispersión y Autoecología de *Phymactis clematis* Dana, 1849 (Anthozoa: Actiniaria). **Cienc. Mar.**, 21(1): 1-12.
- _____ 1996. Ecología trófica de las anémonas intermareales *Phymactis clematis* Dana, 1849, *Aulactinia marplatensis* (Zamponi, 1977) y *A. reynaudi* (Milne-Edwards, 1857) (Actiniaria: Actiniidae) relaciones entre las anémonas y sus presas. **Cienc. Mar.**, 22(4): 397-413.
- _____ 1997. The use of cnidocysts for identification from sea anemones populations (Anthozoa, Actiniidae). **Iheringia, Ser. Zool.**, 82: 9-18.
- ACUÑA, F.H.; ZAMPONI, M.O. y PEREZ, C.D. 1996. Metodología para la cuantificación de algunas estructuras taxonómicas en Actiniaria (Cnidaria, Anthozoa). **Iheringia, Ser. Zool.**, 80: 27-31.
- AMOR, A.; LOPEZ ARMENGOL, M.F.; IÑIGUEZ RODRIGUEZ, A.M. and TRAVERSA, L.P. 1991. Intertidal endolithic fauna and its relationship to the mineralogical, physical and chemical characteristics of the substratum. **Mar. Biol.**, 111: 271-280.
- ANEIROS, A.; DÍAZ, M. & MARTÍNEZ-SOLER, R. 1983. Toxinas de la anémona *Bunodosoma granulifera*. **Cienc. Biol.**, 9: 15-24.
- ATES, R.M.L. 1997. Gastropods carrying actinians. **Proc. 6th Int. Conf. Coelent. Biol.**, 1-9.
- AVISE, J.C. 1974. The systematic value of electrophoretic data. **System. Zool.**, 23: 465-481.
- AYALA, F.J. 1983. Enzyme as taxonomic characters. In: **Protein polymorphism: adaptive and taxonomic significance**. Ed. G.S. Oxford & D. Rollingson. Academic Press. London.
- AYRE, D.J. 1983. The effects of asexual reproduction and inter-genotype aggression on the genotypic structure of populations of the sea anemone *Actinia tenebrosa*. **Oecologia**. 57: 158-165.
- BELÉM, M.J.C. 1976. **Estudo sistemático e histológico de quatro espécies de Endomyaria (Actiniaria) encontrados no município de Aracruz, Espírito Santo Brasil.** Dissertação de Mestrado, UFRJ, Rio de Janeiro, 80 pp.
- _____ 1980. Redescricao de *Homostichantus duerdeni* Carlgren, 1900 (Anthozoa, Actiniaria) (Contribuição ao conhecimento da fauna de cnidários do Espírito Santo, Brasil, 2). **Rev. Nordest. Biol.**, 3 (especial): 9-24.
- _____ 1987. **Aspectos da biologia de *Bunodosoma caissarum* Corrêa, 1964 (Cnidaria, Anthozoa, Actiniidae) do litoral do Rio de Janeiro, com ênfase na estimativa de seu comportamento reprodutivo.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 322 pp.

- _____ 1988. Anatomy and biology of *Bunodosoma caissarum* Corrêa, 1964 (Cnidaria, Anthozoa, Actiniidae). 1. Systematic position and revision of morphology and microanatomy. **An. Acad. Bras. Ci.**, 60(3): 365-375.
- BELÉM, M.J.C. e MONTEIRO, D.C. 1977. Contribuições ao conhecimento da fauna de Cnidários do Rio de Janeiro. II. *Haliplanella luciae* (Verrill, 1898), (Actiniaria, Acontiaría), uma nova ocorrência no Brasil. **Dep. Zool. Inst. Biol. UFRJ**, Avulso 26: 1-19.
- _____ 1981. Fauna de Cnidários do Rio de Janeiro. III. *Anthopleura varioarmata* Watzl, 1922 (Actiniaria, Endomyaria), uma nova ocorrência de Actiniidae. **Seminários de Biologia Marinha - Acad. Bras. Ci.**, 193-203.
- BELÉM, M.J.C. & PINTO, S.M. 1990. Morphological and microanatomical study of *Anthopleura krebsi* Duchassaing & Michelotti, 1860 (Cnidaria, Anthozoa, Actiniidae), a new record in Brazil. **An. Acad. Bras. Ci.**, 62(2): 183-192.
- BELÉM, M.J.C. e PRESLECRRAVO, J.C. 1973. Contribuição ao conhecimento da fauna de Cnidários do Espírito Santo, Brasil. I. Considerações sobre Actiniaria do Município de Aracruz, ES. **Bolm. Mus. Bio. Prof. Mello Leitão, Ser. Zoologia**, 80: 1-14.
- BELÉM, M.J.C. & SCHLENZ, E. 1989. First records of an Isophellidae (Cnidaria, Actiniaria) in Brazil, with the redescription of *Telmatactis rufa* (Verrill, 1900) and observations on its asexual reproduction. **An. Acad. Bras. Ci.**, 61(3): 343-353.
- BERTNESS, M.D. & GAINES, S.D. 1993. Larval dispersal and local adaptation in acorn barnacles. **Evolution**, 47: 316-320.
- BILLINGHAM, M. & AYRE, D.J. 1996. Genetic subdivision in the subtidal, clonal sea anemone *Anthothoe albocincta*. **Mar. Biol.**, 125: 153-163.
- BOSCHI, E.E. 1988. El ecosistema estuarial del Río de la Plata (Argentina y Uruguay). **An. Inst. Cienc. Del Mar y Limnol. Univ. Autón. México**, 15(2):159-182.
- BRACE, R.C. 1981. Intraespecific aggression in colour morphs *Phymactis clematis* from Chile. **Mar. Biol.**, 64:85-93.
- BRACE, R.C. & QUICKE, D.L.J. 1986. Seasonal changes in dispersion within an aggregation of the anemone *Actinia equina* with a reappraisal of the role of intraspecific aggression. **J. Mar. Biol. Ass. U.K.**, 66: 49-70.
- BUCKLIN, A. 1985. Biochemical genetic variation, growth and regeneration of the sea anemone *Metridium senile* of British shores. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 65: 141-157.
- BUCKLIN, A. & HEDGECOCK, D. 1982. Biochemical genetic evidence for a third species of *Metridium* (Coelenterata, Actiniaria). **Mar. Biol.**, 66: 1-7.
- CAPPOLA, V.A. & FAUTIN, D.G. 2000. All three species of ptychodactiaria belong to order Actiniaria (Cnidaria: Anthozoa). **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 80(6): 995-1005.
- CARLGREN, O. 1949. A survey of the Ptychodactiaria, Corallimorpharia and Actiniaria. **K.V. A. Handl.**, 1(1): 1-120.
- CARTER, M.A. & THORP, C.H. 1979. The reproduction of *Actinia equina* L. Var. *mesembryanthemum*. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 59: 989-1001.
- CHADWICK, N.E. & ADAMS, C. 1991. Locomotion, asexual reproduction and killing of corals by the corallimorpharian *Corynactis californica*. **Hydrobiologia**, 216/217: 263-269.
- CHINTIROGLOU, C. & KOUKOURAS, A. 1991. Observations on the feeding habitats of *Calliactis parasitica* (Couch, 1846), Anthozoa, Cnidaria. **Oceanologica Acta**, 14(4): 389-396.

- CHINTIROGLOU, C. & SIMSIRIDOU, M. 1997. Biometric investigations on the cnidae of the sea anemone *Actinia equina mediterranea* Form I Schmidt, 1971. **Proc. 6th Int. Conf. Coelenterate Biology**, 101-108.
- CLARK, J.R. & DEWEL, W.C. 1974. The structure of the gonads, gametogenesis and sperm-egg interactions in the Anthozoa. **Am. Zool.**, 14(2):495-610.
- CONOVER, W.J. 1980. **Practical nonparametric Statistics**. John Willey, New York, 494 pp.
- CORRÊA, D. D. 1964. **Corallimorpharia e Actiniaria do Atlântico Oeste Tropical**. Tese Professor Catedrático, São Paulo, Universidade de São Paulo, 139 pp.
- _____ 1965. Anêmonas-do-mar do litoral de São Paulo. **Ciência e Cultura**, 17: 308-309.
- _____ 1973a. On the sea-anemone *Actinoporus elegans* Duchassaing, 1850. **Publ. Seto. Mar. Biol. Lab.**, 20: 157-164.
- _____ 1973b. Sobre anêmonas-do-mar (Actiniaria) do Brasil. **Bolm. Zool e Biol. Mar.**, N. S., 30: 457-468.
- CORRÊA, D. & SCHLENZ, E. 1976. On the sea anemone *Paracondylactis hertwizi* (Wassilieff, 1908). **Bolm. Zool. USP**, 1: 69-80.
- CRACRAFT, J. 1989. Speciation and its ontology: the empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. *In: Speciation and its Consequences*. Ed. D. Otte & J.A. Endler. Sinauer Associates. Massachusetts.
- CUTRESS, C.E. & ROSS, D. 1969. The sea anemone *Calliactis tricolor* and its association with the hermit crab *Dardanus venosus*. **J. Zool. Lond.**, 158: 225-241.
- DAYTON, P.K. 1971. Competition, disturbance, and community organization: the provision of space in a rocky intertidal community. **Ecol. Monogr.**, 41: 351-389.
- DEN HARTOG, J.C. 1987. A redescription of the sea anemone *Bunodosoma biscayensis* (Fischer, 1874) (Actiniaria, Actiniidae). **Zool. Med.**, 61(36): 533-558.
- DEN HARTOG, J.C. & VENNAM, J. 1993. Some Actiniaria (Cnidaria: Anthozoa) from the west coast of India. **Zool. Med.**, 67(42): 601-637.
- DONOGHUE, A.M., QUICKE, D.L.J. & BRACE, R. 1985. Biochemical-genetic and acrorhagial characteristics of pedal disc colour phenotypes of *Actinia equina*. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 65: 21-33.
- DOUMENC, D.; CHINTIROGLOU, C. & FOUBERT, A. 1989. Variabilidade do gênero *Telmatactis* Gravier, 1918 (Actiniaria, Acontinaria, Isophelliidae). **Bull. Mus. natn. Hist. Nat.**, 4º serie, 11, section A (1): 5-45.
- DUBE, V. M. C. 1974. **Anêmonas do Mar (Ordem Actiniaria) do Estado da Bahia**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 81pp.
- _____ 1975. Contribuição ao estudo de anêmonas-do-mar do estado da Bahia 1. *Actinia bermudensis* McMurrich, 1889 e *Anemonia sargassensis* Hargitt, 1908. **Natura**, 1(½): 104-110.
- _____ 1976. Contribuição ao estudo de anêmonas-do-mar do estado da Bahia. 2. *Phyllactis praetexta* Dana, 1846 e *Calliactis tricolor* Lesueur, 1817. **Natura**, 2: 101-110.
- _____ 1978. Sea anemones (Order Actiniaria) of the state of Bahia. *Homostichanthus duerdeni* (Carlgren, 1900). **Atas Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, 19: 31-32.
- _____ 1983. Contribuição ao estudo de anêmonas-do-mar do estado da Bahia. 5. *Bellactis ilkalyseae* gen. nov. sp. nov. **Natura**, 83(5): 82-93.

- DUNN, D.F. 1981. The clownfish sea anemones: Stichodactylidae (Coelenterata: Actiniaria) and other sea anemones symbiotic with pomacentrid fishes. **Trans. Amer. Phil. Soc.**, 71(1): 1-115.
- DUNN, D.F.; KASHIWAGI, M. & NORTON, T. 1975. The origin of antitumour activity in sea anemones - short communication. **Comp. Biochem - Physiol.**, 50c: 133-35.
- ECHEVERRÍA, A.; PIRES, D.; MEDEIROS, M. & CASTRO, C. 1997. Cnidarians of the Atol das Rocas, Brazil. **Proc. 8th Int. Coral Reef Sym.**, 1: 443-446.
- EDMANDS, S. 1996. The evolution of mating systems in a group of brooding sea anemones (*Epiactis*). **Int. J. Invert. Reprod. Dev.**, 30: 227-237.
- EDMANDS, S. & POTTS, D.C. 1997. Population genetic structure in brooding sea anemones (*Epiactis* spp.) with contrasting reproductive modes. **Mar. Biol.**, 127: 485-498.
- ELLINGTON, W.R. 1982. Metabolic responses of the sea anemone *Bunodosoma cavernata* (Bosc) to declining oxygen tensions and anoxia. **Physiol. Zool.**, 55:240-249.
- EXCOFFON, A.C.; BELEM, M.J.C.; ZAMPONI, M.O. and SCHLENZ, E. 1997. The validity of *Anthotoe chilensis* (Actiniaria, Sagartiidae) and its distribution in Southern Hemisphere. **Iheringia, Sér. Zool.**, 82: 107-118.
- EXCOFFON, A. y ZAMPONI, M.O. 1991. La biología reproductiva de *Phymactis clematis* Dana, 1849 (Actiniaria: Actiniidae): Gametogénesis, periodos reproductivos, desarrollo embrionario y larval. **Spheniscus**, 9: 25-39.
- _____ 1993. Anémonas de Mar del Plata y localidades vecinas. IV. *Tricnidactis errans* Pires, 1988 (Actiniaria, Haliplanellidae) **Iheringia, Sér. Zool.**, 75: 47-53.
- _____ 1995. The reproductive biology of *Tricnidactis errans* (Actiniaria, Haliplanellidae) from rocky shore of Mar del Plata (Argentina). **Cah. Biol. Mar.**, 36: 175-179.
- _____ 1996. Reproducción de *Oulactis muscosa* Dana, 1849 (Cnidaria, Actiniaria) en el intermareal de Mar del Plata, Argentina. **Biociências**, 4(1): 127-143.
- _____ 1997. Una excepción al patrón reproductivo del género *Aulactinia* Verrill, 1864 (Cnidaria: Actiniaria). **Biociências**, 5(1): 207-217.
- FEVOLDEN, S.E. & GARNER, S.P. 1986. Population genetics of *Mytilus edulis* (L.) from Oslofjorden, Norway, in oil-polluted and non oil-polluted water. **Sarsia**, 71:247-257.
- FRANCIS, L. 1973. Clone specific segregation in the sea anemone *Anthopleura elegantissima*. **Biol. Bull.**, 144: 64-72.
- _____ 1976. Social organization within clones of the sea anemone *Anthopleura elegantissima*. **Biol. Bull.**, 150: 361-376..
- _____ 1979. Contrast between solitary and clonal lifestyle in the sea anemone *Anthopleura elegantissima*. **Amer. Zool.**, 19: 669-681.
- _____ 1988. Cloning and aggression among sea anemones (Coelenterata: Actiniaria) of the rocky shore. **Biol. Bull.**, 174: 241-253.
- GASHOUT, S.E. & ORMOND, R.F.G. 1979. Evidence for parthenogenetic reproduction in the sea anemone *Actinia equina* L. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.** 59: 975-987.
- GOMES, P. B. 1996. **Anêmonas-do-mar (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) do litoral de Pernambuco**. Monografia de Bacharelado, UFPE, Recife, 52 pp.
- GOMES, P.B., BELEM, M.J.C. & SCHLENZ, E., 1998. Distribution, abundance and adaptation of some Actiniidae (Cnidaria, Actiniaria) on a intertidal sand reef in Carneiros Beach, Pernambuco, Brasil. **Misc. Zool.**, 21(2): 65-72.
- GOMES, P.B. e MAYAL, E.M., 1997a. Levantamento preliminar das anêmonas-do-mar (Cnidaria, Actiniaria) da costa de Pernambuco, Brasil. **Biociências**, 5(2): 45-51.

- _____ 1997b. Histórico dos estudos das anêmonas-do-mar (Cnidaria, Actiniaria) do Brasil. **Trab. Oceanogr.**, 25: 111-119.
- GOMES, P.B. e ZAMPONI, M.O., 1998. Registro de *Phyllactis correa* Schlenz & Belém, 1988 (Actiniaria, Actiniidae) para o litoral de Pernambuco, Brasil. **Biociências**, 6 (2): 185-187.
- GOUVEA, R.C.S; SANTOS, P.L. e GOUVEA, V.A. 1985. Contaminação radioativa de *Bunodosoma caissarum* Corrêa, 1964 (Cnidaria, Actiniidae) sob condições controladas. **Rev. Bras. Biol.**, 45(1/2): 101-104.
- GOUVEA, R.C.S; SANTOS, P.L.; DUTRA, I.R. e GOUVEA, V.A. 1989. Uptake of ²¹⁰Pb and ²¹⁰Po by Brazilian *Bunodosoma caissarum* Correa, 1964 (Cnidaria, Actiniidae). **Sci. Total Environ.**, 83:181-183.
- GRAVIER-BONNET, N. 1987. Nematocysts as taxonomic discriminations in the thecate hydroids. *In: Modern trends in the systematic, ecology and evolution of Hydroids and Hydromedusae*, Oxford University Press, New York, 328pp.
- GROHMANN, P.A. 1998. Anêmonas-do-mar (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) de Vitória, ES. *In: XII Congresso Brasileiro de Zoologia. Resumos*, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, p. 9.
- GROSBERG, R.K. 1991. Sperm-mediated gene flow and the genetic structure of a population of the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. **Evolution**, 45: 130-142.
- GUILCHER, A. 1985. **Coral Reef Geomorphology**. I-XIII. Wiley, New York. 228 p.
- GUIMARÃES-NETO, O.P.; FARIA; GARCIA, R.B. e GUIMARÃES, A.P. 1986. Efeitos dos extratos aquosos de *Bunodosoma caissarum* sobre a atividade cardiovascular de ratos anestesiados. *In: Reunião Anual da Federação de Biologia Experimental. Resumos...* Rio de Janeiro, p. 273.
- HAND, C. 1955. The sea anemones of Central California. pt. 2. The Endomyarian and Mesomyarian anemones. **Was. J. Biol.** 13:37-99.
- _____ 1961. Two new Acontiate New Zealand sea anemones. **Trans. R. New Zealand**, 1(4): 75-89.
- _____ 1975. Behaviour of some New Zealand sea anemones and their molluscan and crustacean hosts. **N.Z. J. Mar. Fresh. Res.**, 9(4): 509-527.
- HANSSON, L. 1991. Dispersal and connectivity in metapopulations. **Biol. J. Linn. Soc.**, 42: 130-142.
- HARLAND, A.D. & DAVIES, P.S. 1994. Time-course of photoadaptation in the symbiotic sea anemone *Anemonia viridis*. **Mar. Biol.**, 119: 45-51.
- HARLAND, A.D. & DAVIES, P.S. 1997. Stimulation of respiration and photosynthesis by light in the symbiotic anemone *Anemonia viridis* (Forsk., 1775) (Anthozoa: Actiniaria). **Proc. 6th Int. Conf. Coel. Biol.**, 233-238.
- HAYLOR, G.S., THORPE, J.P. & CARTER, M.A. 1984. Genetic and ecological differentiation between sympatric colour morphs of the common intertidal sea anemone *Actinia equina*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 16: 281-289.
- HERRNKIND, W.; STANTON, G. & CONKLIN, E. 1976. Initial characterization of the comensal complex associated with the anemone, *Lebrunia danae*, at Grand Bahama. **Bull. Mar. Sci.**, 26(1): 65-71.
- HOFFMANN, R.J. 1976. Genetics and asexual reproduction of the sea anemone *Metridium senile*. **Biol. Bull.**, 151: 478-488
- _____ 1981. Evolutionary genetics of *Metridium senile*. II. Geographic patterns of allozyme variation. **Biochemical genetics**. 19(1/2): 145-154.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- _____. 1986. Variation in contributions of sexual reproduction to the genetic structure of populations of the sea anemone *Metridium senile*. **Evolution**, 40(2): 357-365.
- _____. 1987. Short-term stability of genetic structure in populations of the sea anemone *Metridium senile*. **Mar. Biol.**, 93: 499-507.
- HOWARD, C.L.; SWANK, P. & KASSCHAU, M.R. 1987. Environmental and seasonal influences on the free amino acid pool of the sea anemone *Bunodosoma cavernata* (Bosc) under natural conditions. **Comp. Biochem. Physiol.**, 87A:319-325.
- HUNT, A. & AYRE, D.J. 1989. Population structure in the sexually reproducing sea anemone *Oulactis muscosa*. **Mar. Biol.**, 102: 537-544.
- JABLONSKI, D. & LUTZ, R.A. 1983. Larval ecology of marine benthic invertebrates: paleobiological implications. **Biol. Review**, 58: 21-89.
- JACKSON, J.B.C. 1986. Modes of dispersal of clonal benthic invertebrates: consequences for species distributions and genetic structure of local populations. **Bull. Mar. Sci.**, 39(2): 488-606.
- KASSCHAU, M.R.; RAGLAND, J.B.; PINKERTON, S.A. & CHEN, E.C.M. 1984. Time related changes in the free amino acid pool of the Sea Anemone, *Bunodosoma cavernata*, during salinity stress. **Comp. Biochem. Physiol.**, 79 A(1): 155-159.
- KELECOM, A.; SOBREIRO-KELECOM, C. & SOLE-CAVA, A.M. 1982. Bunodosine, a cardiostimulant and CNS acting polypeptide from sea anemone *Bunodosoma caissarum*. In: Annals of IV International Symposium on Marine Natural Products. **Resumos.**, Tenerife.
- KIMURA, M. 1983. **The neutral theory of molecular evolution**. Cambridge University Press, Princeton. 367 pp.
- KLAUTAU, M.; SOLE-CAVA, A.M. & BOROJEVIC, R. 1994. Biochemical systematics of sibling sympatric species of *Clathrina* (Porifera: Calcarea). **Biochem. Syst. Ecol.**, 22: 367-375.
- KNOWLTON, N. 2000. Molecular Genetic analyses of species boundaries in the sea. **Hydrobiologia**, 420: 73-90.
- KRUSKAL, W.H. & WALLIS, W.A. 1952. Use of ranks in one-criterion analysis of variance. **J. Amer. Statist. Assoc.**, 47:583-621.
- LAGOS, P.; DURAN, R.; CERVENANSKY, C.; FREITAS, J.C. & SILVEIRA, R. 2001. Identification of hemolytic and neuroactive fractions in the venom of the sea anemone *Bunodosoma cangicum*. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 34(7): 895-902.
- LEBOEUF, R.D.; McCOMMAS, S.A.; HOWE, N.R. & TAUBER. 1981a. The role of carotenoids in the color polymorphism of the sea anemone *Bunodosoma granulifera* (Anthozoa: Actiniaria). **Comp. Biochem. Physiol.**, 68B: 25-29.
- LEBOEUF, R.D.; McCOMMAS, S.A. & HOWE, N.R. 1981b. Coloration in sea anemones. II. Comparative studies on the column carotenoid polymorphism for two species of *Bunodosoma* (Anthozoa: Actiniaria). **Comp. Biochem. Physiol.**, 68B: 221-224.
- LESSA, E.P. 1990. Multidimensional analysis of geographic genetic structure. **Syst. Zool.**, 39: 242-252.
- LEVINS, R. & LEWONTIN, R.C. 1985. **The dialectical biologist**. Harvard University Press, Londres.
- LONGO, L. 1997. **Repartição espaço-temporal da cnidofauna em arenito de praia em Santa Cruz (Aracruz-ES)**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 87 pp.
- MAHKEN, C. 1972. Observations of cleaner shrimps of the genus *Periclimenes*. In: Ed. B. Colette and S. Earle, eds. Results of Tektite Program: Ecology of coral reef fishes, 180 p. **Nat. Hist. Mus. Los Angeles Co. Sci. Bull.** 14: 71-83.

- MAIDA, M. & FERREIRA, B.P. 1997. Coral reefs of Brazil: an overview. **Proc. 8th Int. Coral Reef Sym.**, 1: 263-274.
- MANCHENKO, G.P., DAUTOVA, T.N. & LATYPOV, Y.Y. 2000. High level of genetic divergence between sympatric color morphs of the littoral sea anemone *Anthopleura orientalis* (Anthozoa: Actiniaria). **Biochem. Syst. Ecol.** 28(8): 737-750.
- MARISCAL, R.N. 1974. Nematocysts. *In: Coelenterate Biology Reviews and new perspectives*. Ed. L. Muscatine & H.M. Lenhoff. Academic Press, New York. pp. 129-178.
- MATTA, M.A.V. 1980. **Radioatividade natural em alguns espécimens da biota marinha**. Dissertação de Mestrado, Centro Biomédico da Universidade do Estado de Rio de Janeiro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 92 pp.
- MAYR, E. 1963. **Animal species and evolution**. Harvard University Press. Cambridge. Massachusetts.
- McCOMMAS, S.A. 1982. Biochemical genetics of the sea anemone *Bunodosoma cavernata* and the zoogeography of the Gulf of Mexico. **Mar. Biol.**, 68: 169-173.
- _____ 1991. Relationships within the family Actiniidae (Cnidaria, Actiniaria) based on molecular characters. **Hidrobiologia**, 216/217: 509-512.
- McCOMMAS, S.A. & LESTER, L.J. 1980. Electrophoretic evaluation of the taxonomic status of two species of sea anemones. **Biochem. Syst. Ecol.** 8: 289-292.
- MCFADDEN, C.S. 1997. Contributions of sexual and asexual reproduction to population structure in the clonal soft coral, *Alcyonium rudy*. **Evolution**. 51(1): 112-126.
- McFADDEN, C.S.; GROSBERG, R.R.; CAMERON, B.B.; KARLTON, D.P.; SECORD, D. 1997. Genetic relationships within and between *Anthopleura elegantissima* revisited: evidence for the existence of two species. **Mar. Biol.**, 128(1): 127-139.
- McMANUS, M.G., PLACE, A.R. & ZAMER, W.E. 1997. Physiological variation among clonal genotypes in the sea anemone *Haliplanella lineata*: growth and biochemical content. **Biol. Bull.**, 192: 426-443.
- MENDES, E.G. 1971. Experimentos farmacológicos com músculos de antozoários, poliquetos e crustáceos. **Ciênc. Cult.**, 23(supl.): 363.
- _____ 1978. Sobre a natureza da mediação química em celenterados. **Ciênc. Cult.**, 30(supl.): 451-452.
- MENDES, E.G. & FREITAS, J.C. 1980. The action of body wall homogenates of sea anemones on their own column and sphincter preparations. **Semin. Biol. Mar. USP**, São Paulo, 3: 1-5.
- _____ 1981. Muscle activation in Cnidaria. *In: 8th International Congress of Pharmacology*, **Abstracts**. 582 p.
- _____ 1984. The response of isolated preparations of *Bunodosoma caissarum* Corrêa, 1964 (CNIDARIA, ANTHOZOA) to drugs. **Comp. Biochem. Physiol.**, 79C(2): 375-382.
- MÖLLER, V.H. 1978. Investigations on the feeding ecology of *Anemonia sulcata*. **J. Zool., Proc. Zool. Soc. Lond.**, 181: 421-437.
- MONTEIRO, F.A., RUSSO, C.A.M. & SOLÉ-CAVA, A.M. 1998. Genetic evidence for the asexual origin of small individuals found in the coelenteron of the sea anemone *Actinia bermudensis* McMurrich. **Bull. Mar. Sci.**, 63(2): 257-264.
- MONTEIRO, F.A.; THORPE, J.P. & SOLE-CAVA, A.M. 1997. Extensive genetic divergence between populations of the common intertidal sea anemone *Actinia equina* from Britain, the mediterranean and Cape Verde Islands. **Mar. Biol.**, 129:425-433.

- MOURA, R.T. de. 1991. **Biomassa, produção primária do fitoplâncton e alguns fatores ambientais na Baía de Tamandaré, Rio Formoso, Pernambuco, Brasil.** Dissertação de Mestrado, Departamento de Oceanografia, UFPE, Recife, 290 pp.
- MULLER-PARKER, G., 1987. Seasonal variation in light-shade adaptation of natural population of the symbiotic sea anemone *Aiptasia pallida* (Carlgren, 1943) in Hawaii. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 112: 165-183.
- NASCIMENTO, A.P.do. 1998. **Meiofauna mediolitorânea das praias urbanas de Pernambuco.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 67 pp.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**. 89: 583-590.
- _____. 1987. **Molecular Evolutionary Genetics.** Columbia University Press. New York.
- NEVO, E.; BEN-SHLOMO, R. & LAVIE, B. 1984. Mercury selection of allozymes in marine organisms: Prediction and verification in nature. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 81:1258-1259.
- NICK, E. & KELLNER, S.R.O. 1971. **Fundamentos de estatística para as ciências do comportamento.** Ed. Renes, Rio de Janeiro. 312 pp.
- NOY, R., LAVIE, B. & NEVO, E. 1987. The niche-width hypothesis revisited: genetic diversity in the marine gastropods *Littorina punctata* (Gmelin) and *L. neritoides* (L.). **J. exp. Mar. Biol. Ecol.**, 109:109-116.
- OLIVIER, S.R., BASTIDA, R., TORTI, M.R. 1970. Las comunidades bentónicas de los alrededores de Mar del Plata (Argentina). *In: Actas Congreso Latinoamericano de Zoología*, 4(2):559-594.
- OLSON, R.R. 1985. The consequences of short-distance dispersal in marine invertebrates. **Ecology**, 66: 30-39.
- PALUMBI, S.R. 1992. Marine speciation on a small planet. **Trends Ecol. Evol.**, 7: 114-118.
- PALUMBI, S.R.; GRABOWSKY, G.; DUDA, T.; GEYER, L. & TACHINO, N. 1997. Speciation and population genetic structure in tropical Pacific sea urchins. **Evolution**, 51(5): 1506-1517.
- PANTIN, C.F.A. 1948. **Notes on microscopical technique for zoologists.** Press Cambridge, London, 77pp.
- PARANHOS, J.D.N.; PINTO, S.L.; SILVA, C.B.; AMARAL, L.F.B. de e FARIAS, R.R.S. 1999. Levantamento preliminar dos Cnidaria da praia de Barra Grande – PI. *In: XII Encontro de Zoologia do Nordeste. Resumos.* Feira de Santana, 184 p.
- PATRONELLI, D. L.; ZAMPONI, M.; BUSTOS, A. y VEGA, F. 1987. Morphological and physiological adaptations in the marginal sphincter of anemone *Phymactis clematis* Dana, 1849, from different environments. **Comp. Biochem. Physiol.**, 88A, (2):337-340.
- PEARSE, V. & FRANCIS, L. 2000. *Anthopleura sola*, a new species, solitary sibling species to the aggregating sea anemone, *A. elegantissima* (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria: Actiniidae). **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 113(3): 596-608.
- PEREZ, C.D. 1992. **Estudio morfológico comparativo entre las especies *Phymactis clematis* Dana, 1849, *Bunodactis reynaudi* Milne-Edwards, 1857 y *Bunodactis marplatensis* Zamponi, 1977 (Cnidaria: Actiniaria) del intermareal de Mar del Plata y Santa Clara del Mar.** Tesis de Grado, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, 45 pp.

- PERRIN, M.C., THORPE, J.P. & SOLÉ-CAVA, A.M. 1999. Population structuring, gene dispersal and reproduction in the *Actinia equina* species group. **Oceanography and Marine Biology: an Annual Review**, 37: 129-152.
- PHILLIPS, P.J. 1974. Protozoan symbionts from the anemone *Bunodosoma cavernata* from Galveston Island, Texas. **Gulf Res. Repts.**, Ocean Spring, 4(2): 186-190.
- PIRES, D.O. 1988. *Tricnidactis errans* n.gen n.sp. (Cnidaria, Actiniaria, Haliplanellidae), from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Brasil. Biol**, 48(3): 507-516.
- PIRES, D.O.; CASTRO, C.B.; MIGOTTO, A.E. e MARQUES, A.C. 1992. Cnidários bentônicos do Arquipélago de Fernando de Noronha, Brasil. **Bolm. Mus. Nac., N. S., Zool.**, 354: 1-21.
- QUICKE, D.L.J. & BRACE, R.C. 1983. Phenotypic and genotypic spacing within an aggregation of the sea anemone, *Actinia equina*. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 63: 493-515.
- _____ 1984. Evidence for the existence of a third, ecologically distinct morph of the anemone, *Actinia equina*. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 64: 531-534.
- QUICKE, D.L.J., DONOGHUE, A.M. & BRACE, R.C. 1983. Biochemical-genetic and ecological evidence that red/brown individuals of the sea anemone *Actinia equina* comprise two morphs in Britain. **Mar. Biol.**, 77: 28-37.
- QUICKE, D.L.J., DONOGHUE, A.M., KEELING, T.F. & BRACE, R.C. 1985. Littoral distributions and evidence for differential post-settlement selection of the morphs of *Actinia equina*. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 65: 1-20.
- RIEMANN-ZUERNECK, K. 1969. *Sagartia troglodites* (Anthozoa): biologie und morphologie einer schlickbewohnenden Aktinie. **Veroff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.**, 12(2):169-230.
- ROSS, D.M.1975. The Behavior of pagurids in symbiotic associations with actinians in Japan. **Publ. Seto Mar. Biol. Lab.**, XXII (1/4): 157-170.
- ROSS, D.M. & ZAMPONI, M.1982. A symbiosis between *Paracalliactis mediterranea* n.sp. (Anthozoa-Actiniaria) and *Pagurus variabilis*. Milne-Edwards and Bouvier. **Vie Milieu**, 32(3): 175-181.
- ROSSO, S. 1984. **Biologia de *Psamanthus caraguaensis* n. gen. e n. sp. (Cnidaria, Actiniidae)**. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 195 pp.
- RUSSO, C.A.M. & SOLE-CAVA, A.M. 1991. High levels of gene variation and the population structure of *Bunodosoma caissarum* (Cnidaria: Actiniidae). **Rev. Biol. Trop.**, 39(1): 41-46.
- RUSSO, C.A.M.; SOLE-CAVA, A.M. & THORPE, J.P. 1994. Population structure and genetic variation in two tropical sea anemones (Cnidaria, Actiniidae) with different reproductive strategies. **Mar. Biol.**, 119: 267-276.
- SCHAEFER, W. 1981. Reproduction and sexuality of *Cereus pedunculatus* and *Actinia equina* (Anthozoa, Actiniaria). **Helgolander Meer**, 34: 451-461.
- SCHELTEMA, R.S. 1989. Planktonic and non-planktonic development among prosobranch gastropods and its relationship to the geographic range of the species. In: **Reproduction, genetics and distributions of marine organisms**. Ed. J.S. Ryland, P.A. Tyler. 23rd European Marine Biology Symposium 1988, Olsen & Olsen, pp. 183-188.
- SCHLENZ, E. & BELÉM, M.J.C. 1992. *Phyllactis correa* n. sp. (Cnidaria, Actiniaria, Actiniidae) from Atol das Rocas, Brazil, with notes on *Phyllactis flosculifera* (Lesueur, 1817). **Bolm. Zool. U.S.P.**, 12: 91-117.
- SCHLICHTER, D.; BAJORAT, K.; BUCK, M.; ECKES, P.; GUTKNECHT, D.; KRAUS, P.; KRISCH, H. & SCHMITZ, B. 1986. Epidermal nutrition of sea anemones by absorption of organic compounds dissolved in the oceans. **Zool. Beitr. N.F.**, 30: 29-47.

- SCHMIDT, H. 1969. Die Nesselkapseln der Aktinien und ihrer differential diagnostische Bedeutung. **Helgol. wiss. Meer.**, 19(2): 284-317.
- _____ 1972. Prodrómus zu einer monographie der mediterranen Aktinien. **Zoologica**. 42: 1-120.
- _____ 1974. On evolution in the Anthozoa. **Proc. 2nd Int. Coral Reef Symp.**, 1: 533-560.
- SEBENS, K. P. 1981. The allometry of feeding, energetics, and body size in three sea anemones species. **Biol. Bull.**, 161:152-171.
- _____ 1982. Asexual reproduction in *Anthopleura elegantissima* (Anthozoa, Actiniaria) - seasonality and spatial extent of clones. **Ecology**, 63: 434-444.
- SHAW, P.W. 1991. Effects of asexual reproduction on population structure of *Sargatia elegans* (Anthozoa: Actiniaria). **Hydrobiologia**. 216/217: 519-525.
- SHAW, P.W., BEARDMORE, J.A. & RYLAND, J.S. 1987. *Sargatia troglodytes* (Anthozoa: Actiniaria) consists of two species. **Mar. Ecol. - Prog. Ser.**, 41: 21
- SHICK, J.M. 1991. **A Functional Biology of sea Anemones**. Chapman & Hall.
- SHICK, J. M. & LAMB, A. N., 1977. Asexual reproduction and genetic population structure in the colonizing sea anemone, *Haliplanella luciae*. **Biol. Bull.**, 153: 604-617.
- SHICK, J.M., HOFFMANN, R.J. & LAMB, A.N. 1979. Asexual reproduction, population structure in the colonizing sea anemone *Haliplanella luciae*. **Biol. Bull.**, 153: 604-617.
- SKIBINSKI, D.O.F. & WARD, R.D. 1981. Relationship between allozyme heterozygosity and rates of divergence. **Genet. Res.** 38: 71-92.
- SMITH, B.L. & POTTS, D.C. 1987. Clonal and solitary sea anemones (*Anthopleura*) of western North America: population genetics and systematics. **Mar. Biol.**, 94: 537-546.
- SNEATH, P.H.A. & SOKAL, R.R. 1973. **Numerical Taxonomy**. Freeman. San Francisco.
- SOKAL, R.R. & ROHLFS, F.J. 1995. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research.** W.H. Freeman and Company, New York., 887 pp.
- SOLÉ-CAVA, A.M., KLAUTAU, M., BOURY-ESNAULT, N., BOROJEVIC, R. & THORPE, J.P. 1991. Genetic evidence for cryptic speciation in allopatric populations of two cosmopolitan species of the calcareous sponge genus *Clathrina*. **Mar. Biol.**, 111: 381-386.
- SOLE-CAVA, A.M., RUSSO, C.A.M., ARAUJO, M.E. & THORPE, J.P. 1994. Cladistic and phenetic analysis of allozyme data for nine species of sea anemone of the family Actiniidae (Cnidaria: Anthozoa). **Biol. J. Linn. Soc.**, 52:225-239.
- SOLÉ-CAVA, A.M. & THORPE, J.P. 1987. Further genetic evidence for the reproductive isolation of the green color morph of the intertidal sea anemone *Actinia equina*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 38: 225-229.
- _____ 1989. Biochemical correlates of genetic variation in marine lower invertebrates. **Bioch. Genet.**, 27:303-312.
- SOLÉ-CAVA, A.M. & THORPE, J.P. 1991. High levels of genetic variation in natural populations of marine lower invertebrates. **Biol. J. Linn. Soc.**, 44: 65-80.
- _____ 1992. Genetic divergence between colour morphs in populations of the common intertidal sea anemones *Actinia equina* and *A. prasina* (Anthozoa: Actiniaria) in the Isle of Man. **Mar. Biol.**, 112: 243-252.
- SOLÉ-CAVA, A.M., THORPE, J.P. & KAYE, J.G. 1985. Reproductive isolation with little genetic divergence between *Urticina* (= *Tealia*) *felina* and *U. eques* (Anthozoa: Actiniaria). **Mar. Biol.**, 85: 279-284.

- SOLÉ-CAVA, A.M., THORPE, J.P. & TODD, C.D. 1994. High genetic similarity between geographically distant populations in a sea anemone with low dispersal capabilities. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.**, 74: 895-902.
- STOTZ, W.B., 1979. Functional morphology and zonation of three species of the sea anemones from Rocky Shores in southern Chile. **Mar. Biol.**, 50: 181-188.
- SWOFFORD, D.L. & SELANDER, R.B. 1981. BIOSYS-1, a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. **J. Hered.** 72: 281-283.
- THORPE, J.P. 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematics. **Annual Review in Ecology and Systematic**. 13: 139-168.
- THORPE, J.P. 1983. Enzyme variation, genetic distance and evolutionary divergence in relation to levels of taxonomic separation. *In*: **Protein polymorphism: adaptive and taxonomic significance**. Ed. G.S. Oxford & D. Rollison. Academic Press. London.
- THORPE, J.P. & SOLE-CAVA, A.M. 1994. The use of enzyme electrophoresis in invertebrates systematics. **Zool. Scripta**, 23: 3-18.
- TRALDI, E.S. & SCHLENZ, E. 1990. Estratégias de ocupação de um costão rochoso por cinco espécies de anêmonas no litoral do estado de São Paulo. **II Simpósio de Ecossistemas da costa sul e sudeste brasileira: estrutura, função e manejo**, 3: 67-74.
- TSUCHIDA, C.B. & POTTS, D.C. 1994. The effects of illumination, food and symbionts on growth of the sea anemone *Anthopleura elegantissima* (Brandt, 1835). I. Ramet growth. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 183:227-242.
- TYTLER, E.M. & DAVIES, P.S. 1984. Photosynthetic production and respiratory energy expenditure in the anemone *Anemonia sulcata* (Pennant). **J. exp. mar. Biol. Ecol.**, 81: 73-86.
- UCHIDA, T. 1936. Influence of the currents upon the distribution of races and frequency of asexual reproduction in the actinian *Diadumene luciae*. **Zool. Mag.**, 48: 895-906.
- UCHIDA, T. 1940. The fauna of Akeshi Bay X. Actiniaria. **J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.**, Sapporo, ser. 6, zool., 7(3):265-275.
- UCHIDA, T. & MURAMATSU, S. 1958. Notes on some Japanese sea-anemones. **J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.**, Sapporo, ser. 6, zool., 14(1):111-119.
- VAN VALEN, L. 1965. Morphological variation and the width of the ecological niche. **Amer. Natl.**, 99:337-390.
- VIOLANTE, R.A. & PARKER, G. 1999. Historia evolutiva del río de la Plata durante el Cenozoico superior. *In*: XIV Congreso Geológico Argentino, Salta, **Actas I**: 504-507.
- WARD, R.D. & BEARDMORE, J.A. 1977. Protein variation in the plaice (*Pleuronectes platessa*). **Genet. Res.** 30: 45-62.
- WARD, R.D. & SKIBINSKI, D.O.F. 1985. Observed relationships between protein heterozygosity and protein genetic distance and comparisons with neutral expectations. **Genet. Res.**, 45:315-340.
- WEILL, R. 1934. Contribution à l'étude des cnidaires et de leurs nématocystes. **Trav. Sta. Zool. Wimereux**, 10: 1-701.
- WEIS, V.M. 1990. The induction of carbonic anhydrase in the symbiotic sea anemone *Aiptasia pulchella*. **Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole**, 180: 496-504.
- WILLIAMS, R.B. 1973. Are there physiological races of the sea anemone *Diadumene luciae*? **Mar. Biol.**, 21: 327-330.
- _____ 1996. Measurements of cnidae from sea anemones (Cnidaria: Actiniaria): statistical parameters and taxonomic relevance. **Scientia Marina**. 60(2/3): 339-351.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WRIGHT, S. 1978. **Evolution and the genetics of populations**. The University of Chicago Press. London.
- ZAMPONI, M.O. 1974. *Neoparacondilactis haraldoi* gen. et sp. nov. (Actiniaria, Actiniidae). **Physis, Sec. A.**, 33(87): 543-547.
- _____ 1977. La anemonofauna de Mar del Plata y localidades vecinas. I. Las anémonas Boloceroidaria y Endomyaria (Coelenterata: Actiniaria). **Neotrópica**, 23(70): 137-153.
- _____ 1978a. La anemonofauna de Mar del Plata y localidades vecinas. II. Las anémonas Mesomyaria (Coelenterata: Actiniaria). **Neotrópica**, 24(71): 21-26.
- _____ 1978b. Sobre la anémona *Paraisometridium pehuensis* gen. y sp. nov. (Actiniaria: Metridiidae). **Neotrópica**, 24(72): 117-122.
- _____ 1979a. Sobre la alimentación en Actiniaria (Coelenterata Anthozoa). **Neotrópica**, 25(74): 195-201.
- _____ 1979b. La anemofauna de Mar del Plata y localidades vecinas. II. Las anémonas Acontiaría (Coelenterata: Actiniaria). **Neotrópica**, 25(74): 145-154.
- _____ 1980. Los desplazamientos locales en Actiniarios y aportes a su conocimiento ecológico. **Neotrópica**, 26(75): 57-64.
- _____ 1993(1996). El ambiente intermareal subtemplado frío como un posible "pool" de tipos reproductivos. **Physis, Secc. A**, 51(120-121): 13-15.
- _____ 2000. El estuario del Río de la Plata: una barrera geográfica para los cnidarios bentónicos marinos? **Biociências**, 8(1):127-136.
- ZAMPONI, M.O. y ACUÑA, F.H. 1991. La variabilidad de los cnidocistos y su importancia en la determinación de clines. **Physis, Secc. A**, 49(116-117):7-18.
- _____ 1992. Sobre las características gonadales de *Monactis vestita* (Gravier, 1918), sensu Riemann-Zürneck, 1986 (Actiniaria, Hormathiidae). **Iheringia, Sér. Zool.**, 72: 151-152.
- ZAMPONI, M.O.; BELEM, M.J.C.; SCHLENZ, E. & F. ACUÑA, F. 1998. Distribution and some ecological aspects of Corallimorpharia and Actiniaria from shallow waters of the south American Atlantic Coasts. **Physis, Sec. A**, 55(128-129): 31-45.
- ZAMPONI, M.O. y EXCOFFON, A.C. 1986. Algunos aspectos de la biología reproductiva de *Bunodactis marplatensis* Zamponi, 1977 (Actiniaria, Actiniidae). **Spheniscus**, 4: 9-18.
- ZAMPONI, M.O. & PEREZ, C.D. 1996. Comparative morphological study of different species of Actiniaria between the intertidal zone from Mar del Plata and Santa Clara del Mar (Argentina). I. *Phymactis clematis* Dana, 1849 (Anthozoa, Actiniidae). **Biociências**, 4(1): 91-102.
- _____ 1997. Comparative morphological study of different species of Actiniaria between the intertidal zone from Mar del Plata and Santa Clara del Mar (Argentina). II. *Aulactinia reynaudi* Milne-Edwards, 1857 y *Aulactinia marplatensis* Zamponi, 1977 (Anthozoa, Actiniidae). **Biociências**, 5(1): 165-171.
- ZAR, J.H. 1996. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, New Jersey, 662 pp.