

Tesis Doctoral

Biología reproductiva, crecimiento y dieta del caracol ciego *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) (Gastropoda: Nassariidae) en el golfo San José, Patagonia Argentina

Averbuj, Andrés

2009

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:

Averbuj, Andrés. (2009). Biología reproductiva, crecimiento y dieta del caracol ciego *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) (Gastropoda: Nassariidae) en el golfo San José, Patagonia Argentina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Averbuj, Andrés. "Biología reproductiva, crecimiento y dieta del caracol ciego *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) (Gastropoda: Nassariidae) en el golfo San José, Patagonia Argentina". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2009.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental

**Biología reproductiva, crecimiento y dieta del caracol ciego
Buccinanops cochlidium (Dillwyn, 1817) (Gastropoda:
Nassariidae) en el golfo San José, Patagonia Argentina.**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de las Ciencias Biológicas

Lic. Andrés Averbuj

Director: Dr. Pablo E. Penchaszadeh

Director Asistente: Dr. Gregorio Bigatti

Lugar de trabajo: Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”

Buenos Aires, 2009



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental

**Biología reproductiva, crecimiento y dieta del caracol ciego
Buccinanops cochlidium (Dillwyn, 1817) (Gastropoda: Nassariidae) en
el golfo San José, Patagonia Argentina.**



Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el
área de las Ciencias Biológicas

Lic. Andrés Averbuj

Director: Dr. Pablo E. Penchaszadeh

Director Asistente: Dr. Gregorio Bigatti

Lugar de trabajo: Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”

Buenos Aires, 2009

*... Y aunque no exista ya mar ni océano
que te devuelva a estas orillas,
esta su vaivén eterno,
su avance y retirada,
con promesa maternal
de que quizás bajo el manto
húmedo haya vida...*

AGRADECIMIENTOS

Voy a permitirme agradecer a todos, a todo, y a mi manera...

Cuando se comienza, ni se piensa en el final. Cuando se transcurre, se cree que nunca llegara el final. Cuando se acerca el momento se desea que no llegue. Cuando se huele, inevitablemente, se disfruta intensamente. Y se hacen muy palpables y evidentes tanta ayuda, tanto consejos, la fuerza y el apoyo recibido. Por todo ello, GRACIAS!!

Gracias a mamá, a Ana, que nutrió y calentó mi CORAZÓN inquieto, y que me enseñó que nunca es tarde ni mucha la BÚSQUEDA.

Gracias a mi viejo, Hugo, que me expresa su amor con TODO lo que tiene. A él que fue el primer impulsor y sostenedor de tantos juegos como este de la biología que terminaron en MÁS.

Gracias a mi hermano Pablo, primer COMPAÑERO, que sabe como yo que ésto no es TODO. Celebro el reencuentro!

A mi COMPAÑERA amada, Sole. La que soporta, empuja, cuida, pide, da mucho, busca y se muestra. Gracias por compartir el CAMINO. “No hay casualidad sino destino, no se encuentra sino lo que se busca y se busca lo que esta escondido en los más profundo de nuestro corazón” E. Sábato.

A Pencha, que difícil decir algo que no sea poco. Es mucho el tiempo transcurrido juntos, mucho el cariño, muchos los recuerdos... A esta altura te agradezco el espacio de formación mutua y conjunta, afectivo y serio, divertido y HUMANO. Y el aguante! (gracias por facilitar lo difícil y dificultar lo fácil desde hace más de 10 años).

Al amigo Grego, al colega Gregorio, al doctor Bigatti. Disfrute mucho “aquellas primeras campañas patagónicas (sobre todo la número 28... se acuerda!?)”, los viajes, las charlas de la vida. Siempre estás, y es mutuo. Por que la nueva etapa sea igualmente rica.

Al Dr. Pastorino que paso a ser Guido. Sigue sabiendo tanto como antes (y más!) y está mucho mas cerca. *Gracias por el sombrero!* Yo entiendo en eso a las campañas, buceos, charlas, congresos, enseñanzas académicas y científicas, y tanto más.

A Eugenia Zavattieri y Oscar Wheeler, su colaboración con la toma de muestras en esta tesis fue indispensable. Sobre todo disfruto las charlas con mate (y pan de nuez). Gracias!

A Alfredo Castro Vázquez que siempre compartió desinteresadamente su conocimiento.

A Florencia Cremonte por guiarme en el capítulo de los parásitos. Nunca creí que me resultarían tan interesantes esos gusanos...

Silvia Marcomini y Rubén López aportaron sus valiosos comentarios pero sobre todo agradezco su trato tan humano.

Gracias a Isabel Farías por su ayuda profesional con los cortes de TEM de los minúsculos ojos de estos caracoles y por su calidez.

Gracias a tanta gente que me ayudó con la toma de muestras, análisis de datos, y sobre todo con las correcciones de esta tesis. A Juan Pablo (Juampi), Livore, Martín (Tincho) Brogger, Carlos (Charly) Sánchez Antelo, y a Sole de nuevo Maxi Cledón, Florencia (Loty) Bullit, Ezequiel Marzinelli, Pedro Fiorda, Stephen Johnson, Jeanne Serb,!

En especial a Sofía Quiroga y Diego Caraballo que compartieron bajo mi dirección un período de estos 4 años, colaborando con el proyecto. Muchas gracias!

A Diego U., Javier S., Silvia Valeria T., Gaby P., Juliana G., Florencia A., Mariano M., Daniel L., José F. A., María Eugenia S., Lore R., María B., a los otros que ya nombré y a los que estuvieron en todo este tiempo en el laboratorio y dejaron más que mugre. Gracias a todos por hacer un grupo diverso y creativo del que estoy feliz y orgulloso de ser parte!

Maru Vigna me ayudó con el diseño de la tesis, gracias marurururuu!

Gabriel Curi ofreció desinteresadamente el equipo radiográfico a la ciencia malacológica.

Gracias al personal de apoyo CENPAT (Hormiga, Néstor, Fabián, Bebo) que nos dieron una mano estando lejos de casa, cada vez que la necesitamos.

A mi familia, abuelos que tanto extraño, a mis primos y tíos. Son parte de mi, así que son parte de esto.

No quiero dejar de agradecer a mis amigos. Cada uno sabe y cada uno siente. Pero fue desde las andanzas en el barrio, las juntadas a “estudiar” en la facu, los grupos y encuentros de la Pquia. Santa Cruz, en canto o en teatro, en la pileta compartiendo un juego/deporte increíblemente divertido como el hockey subacuático, y en el encuentro con los otros en general a lo largo de la vida...

Carlos Saracini c.p. y Stella Maris Marusso no están relacionados directamente con la biología y sin embargo poseen mucha sabiduría que me han brindado. Gracias maestros de la vida!!!

A los jurados que brindan su tiempo y se interesan en el conocimiento y la formación de nuevos investigadores.

CONICET hizo posible este proyecto otorgándome una beca doctoral.

La Universidad de Buenos Aires me brindó como institución, y en cada uno de sus docentes, la formación básica mas completa posible. Con mucho por mejorar en ella, me es preciso destacar la importancia de que exista, que sea abierta, libre y gratuita.

American Malacological Society, Conchologist of America y Bermuda Biological Station for Research colaboraron con mi formación mediante premios y becas.

Resumen	i
Abstract	iv
1 Introducción	1
1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.2 REPRODUCCIÓN	2
1.3 ECOLOGÍA.....	6
1.4 LA FAMILIA NASSARIIDAE Y EL GÉNERO <i>Buccinanops</i>	10
1.5 <i>Buccinanops cochlidium</i>	12
1.6 OBJETIVOS	18
1.6.1 Objetivo general	18
1.6.2 Objetivos particulares	18
2 Metodología General	19
2.1 ÁREA DE ESTUDIO	19
2.2 MUESTREOS Y PROCESAMIENTO	23
2.3 HISTOLOGÍA	26
2.3.1 Fijado, conservación y deshidratación	26
2.3.2 Inclusión en parafina y montaje.....	26
2.3.3 Tinción.....	27
2.3.4 Inclusión en resina y montaje	27
2.4 Microscopía electrónica de barrido.....	28
2.5 Comparación con otras especies del género	28
2.6 Estadística.....	29
3 Estacionalidad reproductiva y desarrollo embrionario	30
3.1 INTRODUCCIÓN.....	30
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.2.1 Estacionalidad reproductiva	32
3.2.2 Desarrollo embrionario	33
3.2.3 Experimento en acuario	34
3.2.4 Comparación con <i>Buccinanops monilifer</i>	35
3.2.5 Estadística	35
3.3 RESULTADOS	36
3.3.1 Estacionalidad reproductiva	36
3.3.2 Desarrollo embrionario	42
3.3.3 Experimento en acuario	47

3.3.4 Comparación con <i>Buccinanops monilifer</i>	48
3.4 DISCUSIÓN.....	50
3.4.1 Estacionalidad reproductiva	50
3.4.2 Desarrollo embriológico	52
3.4.3 Experimento en acuario	54
3.4.4 Comparación con <i>Buccinanops monilifer</i>	54
4 Ojos embrionarios	56
4.1 INTRODUCCIÓN.....	56
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	57
4.2.1 Caracterización de los ojos	57
4.2.2 Estructura.....	57
4.3 RESULTADOS	58
4.3.1 Caracterización de los ojos	58
4.3.2 Estructura.....	58
4.4 DISCUSIÓN.....	62
5 Ciclo gametogénico y madurez reproductiva.....	64
5.1 INTRODUCCIÓN.....	64
5.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	66
5.2.1 Muestreo, procesamiento y estacionalidad.....	66
5.2.2 Estructura gonadal	66
5.2.3 Ciclo gametogénico	67
5.2.4 Talla de madurez sexual	67
5.2.5 Imposex	67
5.2.6 Estadística.....	68
5.3 RESULTADOS	68
5.3.1 Muestreo, procesamiento y estacionalidad.....	68
5.3.2 Estructura gonadal	70
Machos	70
Hembras.....	74
5.3.3 Ciclo gametogénico	78
Machos	78
Hembras.....	79
5.3.4 Talla de primera madurez sexual	84
5.3.5 Imposex	87

5.4 DISCUSIÓN.....	88
5.4.1 Muestreo, procesamiento y estacionalidad.....	88
5.4.2 Estructura gonadal.....	88
5.4.3 Ciclo gametogénico.....	88
5.4.4 Talla de primera madurez sexual.....	90
5.4.5 Imposex.....	91
6 Parasitismo: caracterización y consecuencias.....	92
6.1 INTRODUCCIÓN.....	92
6.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	93
6.2.1 Caracterización del parásito.....	93
6.2.2 Prevalencia y estacionalidad.....	93
6.2.3 Estadística.....	94
6.3 RESULTADOS.....	94
6.3.1 Caracterización del parásito.....	94
6.3.2 Prevalencia y estacionalidad.....	98
6.4 DISCUSIÓN.....	101
6.4.1 Caracterización del parásito.....	101
6.4.2 Prevalencia y estacionalidad.....	102
7 Estructura poblacional y crecimiento.....	104
7.1 INTRODUCCIÓN.....	104
7.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	105
7.2.1 Estructura poblacional.....	105
7.2.2 Marcas de crecimiento de la concha.....	105
7.2.3 Ultraestructura de la concha.....	105
7.2.4 Cuantificación de isótopos estables de O ¹⁸	106
7.2.5 Marcado y recaptura.....	107
7.3 RESULTADOS.....	109
7.3.1 Estructura poblacional.....	109
7.3.2 Marcas de crecimiento de la concha.....	112
7.3.3 Ultraestructura de la concha.....	115
7.3.4 Cuantificación de isótopos estables de O ¹⁸	117
7.3.5 Marcado y recaptura.....	118
7.4 DISCUSIÓN.....	125
7.4.1 Estructura poblacional.....	125

7.4.2 Marcas de crecimiento de la concha.....	124
7.4.3 Ultraestructura de la concha	125
7.4.4 Cuantificación de isótopos estables de O ¹⁸	126
7.4.5 Marcado y recaptura	127
8 Dieta y rol ecológico en la comunidad	130
8.1 INTRODUCCIÓN.....	130
8.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	131
8.2.1 Dieta	131
8.2.2 Depredación y competencia	132
8.2.3 Experiencia en acuarios	132
8.2.4 Composición del bentos	132
8.3 RESULTADOS	135
8.3.1 Dieta	135
8.3.2 Depredación y competencia	143
8.3.3 Experiencia en acuarios	148
8.3.4 Composición del bentos	148
8.4 DISCUSIÓN.....	154
8.4.1 Dieta	154
8.4.2 Depredación y competencia	156
8.4.3 Experiencia en acuarios	157
8.4.4 Composición del bentos	158
09 Discusion General.....	159
10 Conclusiones.....	162
11 Bibliografía.....	166
Apéndice abreviaturas	184

RESUMEN

Biología reproductiva, crecimiento y dieta del caracol ciego *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) (Gastropoda: Nassariidae) en el golfo San José, Patagonia Argentina

El género *Buccinanops* (d'Orbigny, 1841) (Caenogastropoda, Nassariidae) es endémico del océano Atlántico sudoccidental, y su nombre significa “sin ojos”, debido a su ausencia en los adultos. El caracol *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) se distribuye en aguas someras de las costas desde el paralelo 19°S (Brasil) hasta el golfo San Matías (43°44'S) en Argentina, a profundidades entre 5 y 50m. En el golfo San José habita aguas someras en fondos de sedimento fino.

Se realizó un estudio de la estacionalidad reproductiva, que incluyó la cópula, oviposición y desarrollo embrionario de *B. cochlidium*. Se observaron individuos copulando durante el otoño e invierno. Entre julio y noviembre se encontraron hembras portando ovicápsulas (máxima frecuencia en octubre) cuando la temperatura fue de 10 °C, mientras que el desarrollo de los embriones continúa hasta febrero (pico de eclosión) cuando la temperatura fue de 18 °C. La talla de la hembra no mostró una relación lineal con el número de ovicápsulas. Las puestas consistieron de 145 ovicápsulas en promedio, adheridas a la región del callo de las conchas maternas, con aproximadamente 3100 huevos (de 227,5 µm de diámetro medio) por cada ovicápsula aproximadamente. Entre 1 y 20 embriones completaron su desarrollo ingiriendo cada uno un promedio de 570 huevos nutritivos, que son ingeridos enteros. En el estadio “veliger” intracapsular el embrión consume la mayor cantidad posible de huevos. Luego de haber completado el desarrollo de la concha los embriones eclosionan como juveniles reptantes de 4 mm en promedio de largo total (LT) de la concha. Se observa una regresión lineal inversa entre la talla de la concha de los embriones a la eclosión y el número de ellos por ovicápsula. Los embriones completaron su desarrollo intracapsular en 4 meses en acuarios acondicionados. En *B. cochlidium* no se observó canibalismo intracapsular a diferencia de *B. monilifer* que comparte con las otras especies la eclosión de un único juvenil por ovicápsula.

Se reconoció por primera vez la existencia de ojos durante el desarrollo embrionario en *B. cochlidium*. Los ojos se observan como manchas oscuras durante el

desarrollo intracapsular y en juveniles. La presencia de los ojos fue confirmada histológicamente en tentáculos cefálicos embrionarios; los que estaban compuestos de células sensoriales, de soporte, una lente, y un nervio óptico. Aún está en discusión el destino ontogénico de los órganos visuales de *B. cochlidium*.

Machos y hembras son diferenciados una vez retirada la concha en base al color de la gónada, presencia/ausencia de pene y glándulas accesorias, respectivamente. La actividad gametogénica fue continua en los machos. Se observó liberación de espermatozoides durante todos los meses del año. Se registró la presencia de paraespermatozoides por primera vez en el género *Buccinanops*. No existe reposo reproductivo en ningún sexo, pero sí reabsorción de los espermatozoides en primavera en los machos y de los oocitos remanentes luego del verano en las hembras. Basados en las tallas oocitarias se observa que el otoño e invierno (cópula) son estaciones de crecimiento gamético, cuando la temperatura del agua desciende de 18 a 10 °C, la primavera (oviposición) de evacuación, y el verano (cuidado de las ovicápsulas) de reabsorción y proliferación. La estacionalidad reproductiva gonádica coincide con la observada en el campo y con los cambios en la temperatura del agua. La talla de primera madurez gonádica (50% población) en machos es de 37 mm de LT de concha. En las hembras, la talla de primera madurez coincide con la de primera oviposición, aproximadamente a los 80 mm. Se sugiere una talla mínima excluyente de captura de 85 mm de manera que las hembras se reproduzcan al menos dos temporadas. En las poblaciones estudiadas del golfo San José no se registraron casos de imposex.

Se registró la ocurrencia de un único parásito en gónadas y glándula digestiva de *B. cochlidium*. Se trató de un trematode digeneo en estadio de redia con cercarias en distintos estadios de desarrollo, pertenecientes a la familia Lepocreadiidae. La cercaria (oftalmotricocerca) coincide con la descrita para *B. monilifer*. Su prevalencia total fue del 15,6 %, afectando a machos y hembras indistintamente. El parásito afecta principalmente las gónadas, provocando castración y reducción de órganos reproductivos. Se registraron parásitos durante todo el año, con una mayor emisión de cercarias maduras en los meses de primavera y verano (con el aumento de temperatura del agua).

La población de golfo San José presenta densidades de adultos de 0,4 m². La proporción de sexos no difirió de 1:1, y la talla media de las conchas fue significativamente mayor en las hembras. Se estimó una población de 13.000 a 14.000 individuos, por el método de estimación de Petersen.

Las conchas poseen 3 capas internas estructuralmente diferentes. Las marcas de crecimiento se depositaron estacionalmente con temperatura del agua menor a 13 °C (diciembre a mayo) y sólo son visibles en la zona marginal de la concha. La edad máxima estimada por el método de validación de isótopos estables de O¹⁸ fue de 11 años. La técnica de marcado resultó efectiva, con más de 2 años y casi 9 % de recapturas. Machos y hembras crecen a una misma tasa promedio de $1,71 \cdot 10^{-3} \text{ día}^{-1}$ o $0,62 \text{ año}^{-1}$ (considerando crecimiento constante durante el todo año), pero alcanzan tallas máximas diferentes de 88 y 96 mm respectivamente. Los incrementos fueron mayores en individuos pequeños y en época de alta temperatura del agua.

La especie *B. cochlidium* es carnívora oportunista. Se alimenta principalmente de moluscos bivalvos (*Ensis macha* y *Tellina petitiiana*). Su dieta incluye también otros grupos como holoturios, equiúridos y carroña, también incluyendo casos de canibalismo. La anémona *Antholoba achathes* es depredadora de *B. cochlidium* y además compite por el recurso alimenticio.

Palabras clave: Nassariidae; *Buccinanops cochlidium*; estacionalidad reproductiva; ovi-cápsulas; huevos nutritivos; embriones; gasterópodos ciegos; pérdida ojos; ciclo gametogénico; talla de madurez; parasitismo; trematode digeneo; castración; tamaño poblacional; marcas de crecimiento; marcado y recaptura; dieta, depredación.

ABSTRACT**Reproductive biology, growth and diet of the nassariid whelk *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) (Gastropoda: Nassariidae) in San Jose gulf, Patagonia, Argentina.**

The genus *Buccinanops* (d'Orbigny, 1841) (Caenogastropoda, Nassariidae) is endemic to the SW Atlantic Ocean; the name implies *no eyes*, due to the lack of visible eyes in adults. The snail *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) is distributed from 19°S (Brasil) to San Matías gulf (43°44'S) Argentina, inhabiting shallow waters up to 50 meters in depth. In San José gulf inhabits shallow waters with fine sand bottoms.

A study of the seasonality of reproduction, including mating, spawn and embryonic development of *B. cochlidium*, from a population inhabiting Patagonian waters was conducted. Mating individuals were observed during fall and winter (March to October, in the Southern Hemisphere). Spawning females were found between July and October (highest frequency in October) when water temperature was 10 °C, while the development of the embryos continued until February (the hatching peak) when water temperature reached 18 °C. A linear regression analysis showed no significant relationship of the female size on the number of egg capsules. Each spawn consisted of 145 egg capsules on average, which the female attaches to its own shell. Each egg capsule contained 3100 eggs on average, with a mean diameter of 227.5 µm previous to cell cleavage. One to 20 embryos completed their development ingesting an average of 570 nurse eggs, which are swallowed entirely. In *B. cochlidium* embryonic cannibalism has not been observed during capsular development as it was in *Buccinanops monilifer*. In the latter species hatches one solitary juvenile per each egg capsule, as in other members of the genus.

During the “veliger” stage the embryo consumed as many nurse eggs as possible. After completing the development of the shell the embryos hatched as crawling juveniles with a mean total shell length of 4.0 mm. A linear regression explained the inverse relationship of the mean shell size of the hatchlings on the number of embryos per egg capsule. In conditioned aquaria the embryos completed their development in four months, under laboratory conditions.

During this study the presence of eyes in several developmental stages of *B. cochlidium* was recognized for the first time. These eyes were observed during intracapsular development as well as in hatchlings and early juveniles. The presence of eyes was histologically confirmed in embryonic cephalic tentacles. They comprised sensory cells, supportive cells, a lens, and an optic nerve cord. The ontogenetic destiny of these organs is not clear.

Once the shell was removed, males and females were distinguishable based on gonad color, and presence/absence of the penis and accessory glands. Gametogenic activity was continuous in males; spermatozoa were released throughout the year. Additionally, paraspermatozoa were registered in this species, for the first instance in the genus. No resting period was observed in any sex of this species; male reabsorption of spermatozoa occurred mainly in the Spring and females reabsorbed oocytes in the late Spring and early Summer. Based on oocyte size-frequencies, Fall and Winter (mating) are growth seasons with water temperature falling from 18 to 10 °C; in Spring (spawning) gametic release occurs, and in Summer (embryological development) the reabsorption and proliferation of gametes. Gonadic reproductive seasonality coincided with water temperature change. The size at first maturity in males was 37 mm; while in the females gonad maturity and spawning coincided with 80 mm of total shell length. A minimum capture size of 85 is suggested, excluding females carrying egg capsules. In the San José gulf population evidence of imposex were not registered.

A solitary parasite species was observed affecting the gonads and digestive glands of *B. cochlidium*, these parasites were noted as larval stages (redia and undeveloped cercariae) of a Trematode Digenea of the Lepocreadiidae family. The cercaria (with eyes and tail) coincided with that described from *B. monilifer*. The total prevalence was 15.6%, and affecting indistinctly males and females. The infection lead to parasite castration, and causing reduction of reproductive organ sizes. The parasites were present throughout the year but with higher rates of mature cercarias expulsion in Spring and Summer (water temperature rise).

The *B. cochlidium* population density at San José gulf was 0.4 individuals/m². The sex ratio did not differ from 1:1, and female shell length was significantly higher than those of males. The population size was estimated to be 13,000 to 14,000 individuals, gathered using the Petersen estimation method. The shell showed 3 structurally different carbonate layers. Growth marks appeared seasonally, corresponding with water temperature falls under 13 °C (December to May), and were

only visible in the shell marginal zone. Maximum age was inferred by growth marks and stable isotope validation, and was 11 years. The mark and recapture method was successful, with a recovery of 9% of the marked individuals after 2 years of recaptures. Males and females grew with similar average growth rate of $1.71 \cdot 10^{-3} \text{ day}^{-1}$ or 0.62 year^{-1} (considering constant growth through the year), but maximum size were 88 and 96 respectively.

Buccinanops cochlidium is carnivorous and behave as an opportunistic predator. It feeds mainly on bivalves (*Ensis macha* and *Tellina petitiana*). Its diet also includes holothurians, echiurids, and carrion including cases of cannibalism. The anemone *Antholoba achathes* predated upon *B. cochlidium* and competed with it for food resources.

Key words: Nassariidae; *Buccinanops cochlidium*; reproductive seasonality; egg capsules; nurse eggs; embryos; eye loss; gastropod blindness; gametogenic cycle; size at first maturity; parasitism; trematode digeneo; castration; population size; shell structure; growth marks; mark and recapture; diet, predation.

1 Introducción

1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

La clase Gastropoda comprende el grupo más diverso dentro del phylum Mollusca, y es solamente superada en número de especies por los insectos. Su gran radiación adaptativa se originó en el mar, colonizando luego ambientes dulciacuícolas y terrestres (Rupert *et al.*, 2004). Los gasterópodos se caracterizan por ser organismos bilaterales que han adquirido una asimetría secundaria, aún cuando puedan aparentar lo contrario. Este carácter secundario deriva del fenómeno de torsión que ocurre en estadíos embrionarios o larvales y que representa una sinapomorfía única en el reino animal. Son los gasterópodos marinos los que incluyen una vasta cantidad de especies de caracoles con concha, ubicados originalmente en la subclase Prosobranchia citada originalmente como *Prosobranchea* por Milne Edwards (1848) aunque sin existir un carácter derivado que los definiera (Hickman, 1988). En la actualidad es reconocido por la mayoría de los autores como un grupo parafilético (Bieler, 1992).

La mayor parte de los antiguos prosobranquios están hoy incluidos en la subclase Orthogastropoda (Ponder y Lindberg, 1996). Las especies incluidas en ésta sí reúnen algunas características comunes, tales como una rádula “flexoglosa”, una glándula hipobranquial, un propodio, estatolitos anteriores o dorsales al ganglio pedal y una reducción significativa de los nervios paleales (Beesley, 1998). La subclase Orthogastropoda contiene el superorden Caenogastropoda que representa el 60% de las especies vivientes de gasterópodos en su mayoría marinos y en menor medida dulciacuícolas y terrestres (Ponder *et al.*, 2007). Se ubican dentro de este superorden numerosas familias ecológica y comercialmente importantes de gasterópodos marinos. Son el resultado de una extraordinaria radiación adaptativa que resultó en una considerable diversidad ecológica, morfológica, fisiológica y comportamental. La misma habría ocurrido asociada a la radiación de gasterópodos depredadores, principalmente neogasterópodos (Sohl, 1969; Taylor *et al.*, 1980), sugiriendo que la competencia y la dieta (Vermeij, 1978, 1987) fueron importantes factores de selección adaptativa (Ponder *et al.*, 2007).

Los Caenogastropoda incluyen especies con amplia diversidad de formas reproductivas, morfológicas y de alimentación. Las formas de alimentación abarcan las modalidades suspensívoras, detritívoras, herbívoras, carnívoras, perforantes y parásitos

(Hirase, 1931; Graham, 1955; Fretter y Graham, 1994). Los mismos pueden variar en tamaño, desde unos pocos milímetros hasta más de 70 cm de longitud de concha (Kohn, 1985); y vivir pocos meses o longevos hasta 20 años y más (Frank, 1969; Giménez *et al.*, 2004; Bigatti *et al.*, 2007; Cledón *et al.*, 2008). Dentro de los Caenogastropoda, los Neogastropoda son un grupo considerado monofilético por la mayoría de los autores (Fig. 1.1) e incluyen una gran diversidad de especies con caracteres derivados muy acentuados. Son mayoritariamente marinos y agrupan aproximadamente treinta familias cuyos miembros comparten caracteres como el desarrollo de un único osfradio (especialmente desarrollado en especies que se entierran o viven en ambientes con escasa luminosidad), un sifón en el borde del manto y su contraparte en la concha el canal sifonal, la pérdida del nefridio derecho y sexos separados (machos con pene y hembras con glándulas sexuales accesorias), entre otros (Ponder *et al.*, 2007).

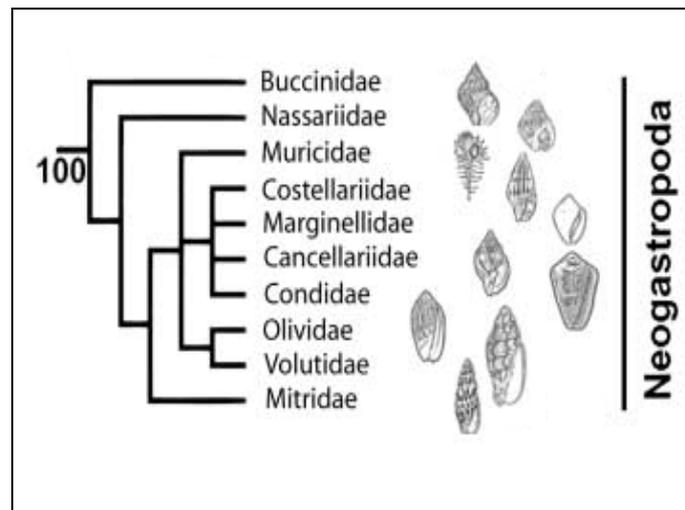


Figura 1.1. Neogastropoda (grupo monofilético). Tomado de Ponder *et al.*, 2007.

1.2 REPRODUCCIÓN

La enorme variabilidad de estrategias reproductivas de los gasterópodos reflejan su diversidad dentro del phylum. Esta variedad incluye, especies hermafroditas (simultáneos o secuenciales) y dioicas. La mayoría de los caenogasterópodos presentan sexos separados, observándose en algunos pocos casos dimorfismo sexual en la concha, rádula y/o en los tejidos blandos (Calow, 1983; Pastorino, 2007). Existen casos de hermafroditismo, principalmente de tipo secuencial, aunque representan sólo el 3% de la biodiversidad de caenogasterópodos (Heller, 1993); por ejemplo el género *Crepidula*

(Linné) que abunda en fondos duros del Mar Argentino (Collin, 2000; Cledón y Penchaszadeh, 2001).

En todos los casos existe una única gónada conectada con el exterior originalmente a través del ducto del nefridio derecho, que luego es compartido y se independiza en los grupos más derivados. La consolidación de esta asociación permite la separación de los sistemas excretor y reproductor, y es a la vez considerado el paso de mayor importancia en la evolución de este último dentro de los gasterópodos (Rupert *et al.*, 2004). En las hembras de especies que han alcanzado la total independencia del sistema reproductor, aparece una vagina o gonoporo, ubicado distal a la gónada y conectados por un gonoducto que se desarrolla como un tejido ciliado derivado del manto. Algunas veces la vagina se halla asociada a un saco donde el esperma es recibido denominado *bursa copulatrix*. La aparición del gonoducto ciliado está relacionada con el desarrollo de otras estructuras especializadas en el almacenamiento de esperma (receptáculo seminal), empaquetamiento de los oocitos (glándula de la cápsula), o el agregado de nutrientes intracapsulares (glándula del albumen) (Hyman, 1967; Fretter y Graham, 1994) (Fig. 1.2 A).

La fecundación en los gasterópodos se consigue mediante liberación de gametas al medio o mediante la transferencia de esperma o espermatozoides a la vagina por parte del macho. En los caenogasterópodos los machos utilizan para ello un pene elongado cuya morfología es variada, siendo ésta un carácter de valor sistemático. Asociado a la aparición del pene en este grupo, aparece una glándula de secreción de líquido seminal llamada glándula prostática, con una localización variable a lo largo del gonoducto masculino o vaso deferente. En algunos casos el esperma es alojado antes de la transferencia en una cavidad llamada vesícula seminal (Hyman, 1967; Fretter y Graham, 1994) (Fig. 1.2 B).

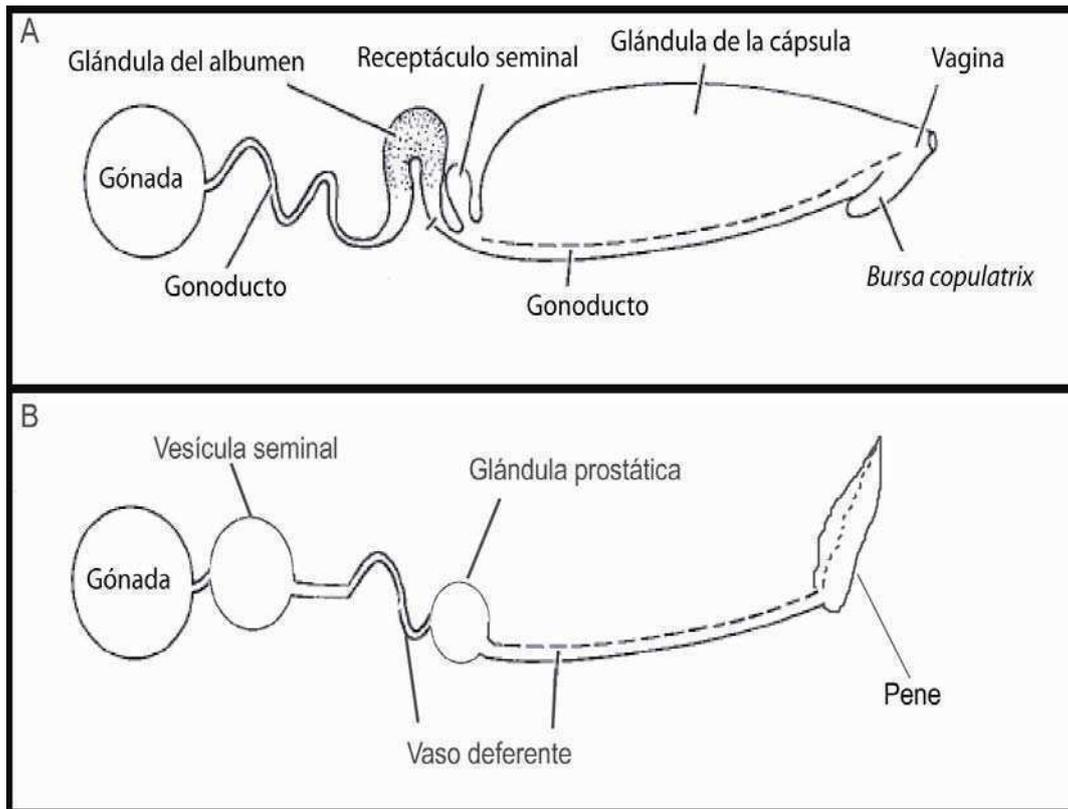


Figura 1.2. Esquema del sistema reproductivo en neogasterópodos (gonocóricos). A- Hembra; B-Macho. Tomado y modificado de Hyman (1967).

Un aspecto interesante de la reproducción de una especie es el conocimiento de su ciclo anual, el cual en caso de ser definido, se ve reflejado a nivel gonádico, endocrinológico y/o comportamental. El conocimiento de los ciclos reproductivos en especies comestibles y que son reconocidas como potencial recurso pesquero es una herramienta muy útil en vista a la implementación de un plan de manejo sustentable (Giménez y Penchaszadeh, 2002; Leiva y Castilla, 2002; Cledón *et al.*, 2005a; Giménez *et al.*, 2005; Bigatti y Ciocco, 2008). Los ciclos pueden incluir alguna o todas las siguientes épocas: de desarrollo gonadal, evacuación, reabsorción y reposo, entre otros. A su vez los ciclos gonádicos de machos y hembras se relacionan de manera de encontrarse pareados, desfasados, o estar uno u otro sexo (o ambos) reproductivamente activos todo el año. Por otro lado, la información gonádica permite aproximar la talla a la que la especie (machos y hembras) es reproductivamente madura (Giménez y Penchaszadeh, 2003; Cledón *et al.*, 2005a; Bigatti *et al.*, 2008), al menos a nivel tisular. Este parámetro constituye un factor de carácter relevante en vista a sugerir pautas de manejo de una especie comercial.

En relación a los estudios reproductivos surge la necesidad de conocer algunos fenómenos que la afectan, comprometiendo el normal desarrollo de las gónadas y órganos reproductores. El parasitismo por parte de trematodes digeneos en gasterópodos, puede provocar castración, reducción de órganos sexuales, y otros efectos que afectan fisiológica y comportamentalmente la reproducción (Lauckner, 1980). Por otra parte se conoce que la contaminación de ambientes marinos puede producir cambios a nivel endocrinológico cuyos efectos a nivel individual se conocen como imposex o imposición de caracteres masculinos en hembras, en casos extremos obliterando sus poros genitales. A nivel poblacional pueden implicar su declinación por falta de actividad reproductiva de los individuos (Gibbs, 1996).

Los huevos de los gasterópodos marinos se desarrollan mediante larvas libres planctotróficas, o protegidas en cápsulas ovígeras (ovicápsulas). En este último caso el embrión puede hacerlo eclosionando en estadio larval alimentándose en la columna de agua hasta su metamorfosis, o completar el desarrollo dentro de la ovicápsula obteniendo la energía para el desarrollo a partir de la ingesta de alimento extravitelino (huevos nutritivos, albumen y proteínas disueltas en el líquido intracapsular), o a partir del propio vitelo en el caso de huevos de gran tamaño con alto contenido del mismo. En cualquiera de estos casos se logra la eclosión como juveniles miniaturas de adultos que reptan fuera de las ovicápsulas, con la consecuente ventaja de encontrarse en el ambiente de los padres adecuado para sus necesidades (Fioroni, 1967; Spigth, 1976; Pechenik, 1986, 1990).

Evolutivamente a partir de la aparición de glándulas accesorias y órganos que posibilitan la fecundación interna, el desarrollo embrionario, que originalmente ocurre en el agua, comienza a ocurrir dentro de ovicápsulas aisladas o agregadas en masas ovígeras, generalmente inmersas en el sedimento o adheridas a sustratos duros como rocas, conchas de moluscos vivos o muertos, otras ovicápsulas, etc. Las ventajas y desventajas del desarrollo directo han sido discutidas en numerosos trabajos (Thorson, 1940a, 1940b; D'Asaro, 1970a; 1970b; Pechenik, 1979, 1986; Johanesson, 1988; Rawlings, 1994; Chaparro *et al.*, 1999 entre otros). Entre las ventajas de valor adaptativo sobresalen la menor mortandad por depredación, la resistencia a desecación y cambios de salinidad, el aporte de sustancias nutritivas extravitelinas dentro de la ovicápsulas, y el mencionado gregarismo de los juveniles reptantes (en cercanía de sus progenitores) a la vez que un menor grado de dispersión en contraposición a las larvas velígeras. En otros casos menos comunes existen cápsulas libres y móviles,

manteniendo las ventajas de la protección ante la desecación, depredación y falta de nutrientes, como es el caso del Volutidae *Adelomelon brasiliiana* (de Mahieu *et al.*, 1974; Penchaszadeh *et al.*, 1999) de las costas del norte del Mar Argentino, sin perder la capacidad de dispersión.

1.3 ECOLOGÍA

Los estudios de ecología de gasterópodos marinos abarcan principalmente aspectos sobre la dieta y mecanismos de alimentación (Taylor *et al.*, 1980; Olson y Mittelbach, 1995), ecología reproductiva (McGwynne y Van der Horst, 1985; Gallardo, 1989), dinámica poblacional (Shuto, 1974; Spight, 1979; Brey, 1990), balance energético (Perron, 1981; Chaparro *et al.*, 1999), efectos de contaminantes y tolerancia a distintos tipos de ambientes (Brown, 1982; Evans y Nicholson, 2000), locomoción y movilidad (Brown, 1979; Himmelman 1988), e historia de vida, entre otros (Pechenik, 1979; McLahlan y Brown, 2006).

En especial abundan aquellos trabajos en los que el conocimiento tiene relación directa con la aplicabilidad de medidas de manejo como recurso pesquero sustentable u otros intereses económicos. Las investigaciones que tratan sobre los ciclos de vida y tasas reproductivas, supervivencia y dispersión de los juveniles, crecimiento y rinde de la captura, y otros parámetros de dinámica poblacional son requeridas por los organismos gubernamentales con miras a la toma de medidas que optimicen la utilización y permitan la perpetuidad del recurso. En este sentido, es necesario conocer en detalle los parámetros reproductivos de la especie, así como también aspectos de su dinámica poblacional y en particular es necesario conocer la edad y tasa de crecimiento del recurso (Gurney *et al.*, 2005).

El crecimiento puede expresarse como el incremento en tamaño o masa que experimenta un organismo a través del tiempo. Cada individuo de una población exhibe un modelo propio de crecimiento que está definido por factores genéticos y modelado por factores ambientales. A la vez, puede extrapolarse a todos los individuos dentro de una población en un mismo sitio y ser descrito por parámetros de una función de crecimiento común que representa el crecimiento teórico de un individuo (Brey, 1999). A partir del conocimiento de la edad de los individuos es posible establecer modelos de crecimiento, mortalidad y productividad en una población (Brey, 1990). Las características propias de cada grupo permiten, con mayor o menor facilidad, determinar la edad a partir de la interpretación de marcas de crecimiento en las estructuras

calcáreas. En general esto es posible mediante la lectura de un patrón visible de bandeo en variadas estructuras de grupos diversos, por ejemplo en las conchas de bivalvos (Lutz y Rhoads, 1980; Wefer y Berger, 1991; Gaspar *et al.*, 2004), los esqueletos de corales (Wells, 1963), otolitos de adultos y larvas de peces (Jones, 1985; Rutherford y Houde, 1995), en las placas inter-ambulacrales de equinodermos (Gage y Tyler, 1985), en las mandíbulas de poliquetos (Oliver, 1980; Valderhaug, 1985), a partir de líneas de crecimiento en briozoos (Brey, 1999), y en el caso de los gasterópodos en la concha y en el opérculo (Wefer y Killingley, 1980; Ekaratne y Crisp, 1982; Santarelli y Gros, 1985; Gendron, 1992; Tojo y Ohno, 1999; Shigemiyama y Kato, 2001) o en los estatolitos de larvas y adultos (Richardson *et al.*, 2005a, 2005b). Por otro lado, experimentos de seguimiento de individuos marcados en el campo pueden ser utilizados para conocer el modelo de crecimiento que mejor representa a la especie, basado en el estudio de los incrementos de talla en función de tiempo transcurrido (Brooks *et al.*, 1994; Henry y Jarne, 2007).

En los gasterópodos existen numerosos trabajos que estudian el crecimiento de la concha, a pesar de la dificultad que implica su morfología espiralada. Esta consiste en general, en una espira tubular cónica que contiene la masa visceral del animal, la cabeza y el pie cuando se encuentra retraído. En muchas especies las conchas muestran marcas conspicuas de crecimiento en su superficie externa, perpendiculares al sentido de aposición del carbonato de calcio (CaCO_3), que pueden ser utilizadas para la cuantificación de las tasas de crecimiento. Estas marcas se pueden observar en el borde del margen del labio externo de la abertura, como una discontinuidad de color o relieve sobre la superficie de la concha. No siempre las conchillas u opérculos poseen marcas de crecimiento visibles. Algunas veces es necesario utilizar técnicas específicas para evidenciarlas, tales como: rayos X, cortes pulidos, microscopía electrónica de barrido (MEB), u otras. Algunos ejemplos son: *Fissurella crasa* (Bretos y Jiron, 1980) y *Nacella concinna* (Picken, 1980), que forman anillos, uno claro y otro oscuro en forma anual. Santarelli y Gros (1985) identificaron estrías anuales (finos anillos), en el opérculo de *Buccinum undatum*. En cambio en el volútido *Odontocymbiola magellanica* de los golfos norpatagónicos, se registraron marcas semianuales (Bigatti *et al.*, 2007). En todos estos casos es necesaria la validación de la correlación entre marca e intervalo de tiempo, mediante métodos como el de isótopos estables (Kideys, 1996; Richardson *et al.*, 2005b).

Generalmente los métodos de estimación de edad presentan distintas dificultades. Las marcas en la concha pueden ser difíciles de interpretar, ya que pueden deberse a la reparación de roturas producidas por eventos de depredación u otros, cuya correspondencia con períodos de crecimiento sólo son corroborables con otras técnicas. La mayor parte de los trabajos realizados sobre crecimiento y edad de gasterópodos utilizan distintas metodologías de medición directas, como la técnica de marcado y recaptura, (Shigemiya y Kato, 2001; Henry y Jarne, 2007). Este tipo de experimentos requieren de un gran esfuerzo de muestreo, dados los bajos índices de recaptura (Vasconcellos *et al.*, 2006; Henry y Jarne, 2007) en un período largo de tiempo, y deben llevarse a cabo en una zona donde las poblaciones estén libres de captura pesquera que barrería con la mayor parte del esfuerzo de marcado. Por otro lado se utilizan métodos de medición indirecta, como el análisis de distribución de frecuencia de tallas a través del tiempo (Roach y Lim, 2000; Richardson *et al.*, 2005a), pero este seguimiento de cohortes en la estructura por tallas de una población no es conveniente en el estudio del crecimiento de especies con un período largo de reclutamiento y/o de gran variabilidad en las tasas de crecimiento (Cerrato, 1980; Gaspar *et al.*, 2004). Todas estas razones parecen influir en que no se cuente con abundantes estudios sobre el crecimiento de las conchas de gasterópodos como se podrían realizar en el grupo (Richardson, 2001).

Existe un consenso general respecto a que los micro-incrementos dentro de las estructuras de carbonato, están asociados a variaciones en la proporción relativa de material orgánico (soluble e insoluble) y de carbonato de calcio en la forma de aragonita y calcita (Ekaratne y Crisp, 1982). Esas variaciones han sido bien documentadas para numerosas especies, tanto actuales como fósiles en una serie de trabajos (Wilbur, 1964; Richardson *et al.*, 2005b) y han sido atribuidas a la deposición diferencial de material de composición y/o estructura variable según las condiciones del medio ambiente o de comportamiento de la especie (Evans, 1972; Hall *et al.*, 1974).

La depositación de carbonato de calcio en las conchas de moluscos en forma de aragonita o calcita, conjuntamente con material orgánico (soluble e insoluble), estaría asociada a cambios ambientales que determinan respiración aeróbica o anaeróbica según Lutz y Rhoads (1980). Sin embargo, alteraciones similares son causadas también por cambios en otros factores ambientales, tales como la temperatura, la salinidad y la disponibilidad de alimentos o por factores internos como la reproducción (Lutz y Rhoads, 1980; Fritz, 2001). Tales cambios en factores ambientales son especialmente

marcados en aguas templadas, por ejemplo, las variaciones temporales producidas en la temperatura y fotoperíodo que se dan en las costas norpatagónicas (Bigatti, 2005).

Considerando los aspectos ecológicamente importantes en el estudio de una especie, sobresale también la composición de su dieta y los mecanismos de alimentación, así como las relaciones tróficas y el rol ecológico que juega tal especie en la comunidad. En un trabajo clásico del año 1955 Graham realiza una descripción de los tipos alimentarios del phylum Mollusca, considerando aspectos tanto filogenéticos como anatómico-estructurales. En este trabajo evidencia con claridad la línea divisoria entre el tipo alimenticio de los moluscos ancestrales, suspensívoros o detritívoros (microfitófagos) y aquellos con hábitos alimenticios carnívoros o herbívoros (macrófagos) que implican en cada caso cambios profundos en los tractos digestivos y selectividad de presas.

Los gasterópodos marinos agrupados dentro de los Orthogastropoda poseen uno de los mayores rangos de diversidad dietaria; incluyendo el pastoreo sobre algas (y hasta el aprovechamiento de “jardines” algales creciendo sobre su concha) (da Silva y Brown, 1984), alimentación suspensívora y detritívora (Schiaparelli y Cattaneo-Vietti, 1999), carroña (Cernohorsky, 1984; Harasewych, 1998), parasitismo (Hirase, 1931) y depredación (Taylor, 1978; 1981; 1996). Todas estas modalidades de alimentación suelen encontrarse asociadas a distintas adaptaciones del aparato digestivo: tipos radulares, adaptaciones para la filtración, estómagos con digestión extracelular, así como de los órganos receptores nerviosos, etc. (Graham, 1955; Taylor *et al.*, 1980).

Las especies de gasterópodos carnívoros poseen ciertas características comunes en sus rádulas, musculatura pedal y comportamiento de alimentación que los define, incluyendo entre otros a los carroñeros y a los depredadores. Al menos la mitad de los gasterópodos estudiados pueden ser clasificados como depredadores (Taylor *et al.*, 1980) y comprenden unas 5.000 a 6.000 especies (Boss, 1971). La mayoría pertenecen a familias del orden Caenogastropoda, y en especial al suborden Neogastropoda (Taylor *et al.*, 1980). Cuando se comparan con los carroñeros, el acto de depredar incluye un complejo comportamiento por parte del depredador. Este comportamiento incluye alguno, varios o todos los siguientes pasos: procesos de búsqueda, captura, inmovilización, penetración de la presa y el consumo de la misma. Los depredadores difieren de otros gasterópodos de distinto hábito alimentario en sus características anatómicas y adaptaciones comportamentales (Graham, 1955; Ponder, 1973). Algunas de estas características presentes en todos los neogasterópodos son: la formación de una

probóscide pleuroembólica (evaginable), el desarrollo de órganos de visión complejos, un sifón bien desarrollado y la elaboración de un órgano de función quimiorreceptora llamado osfradio. Este posee una amplia superficie de contacto con el agua circulante, obtenida mediante grados de plegamiento que varían según el grupo. Su grado de desarrollo estaría asociado al grado de complejización y especialización alimenticia (Taylor y Miller, 1989).

A partir del establecimiento de una especie como depredador en la comunidad, surge con particular interés el estudio de la existencia de competidores por el recurso alimenticio, o el establecimiento de relaciones tróficas con otros animales de la misma comunidad.

1.4 LA FAMILIA NASSARIIDAE Y EL GÉNERO *Buccinanops*

La familia Nassariidae tiene representantes en aguas tropicales, templadas y frías en la mayoría de las provincias biogeográficas alrededor del mundo. Dominan ambientes submareales de aguas poco profundas y fondos blandos, aunque se conocen unas pocas especies que habitan ambientes intermareales rocosos o de profundidades hasta los 2.000 m (Cernohorsky, 1984; Harasewych, 1998). En Argentina la familia está representada por especies de los géneros *Nassarius* (Subfamilia Nassariinae), de amplia distribución, que abarca casi todos los mares del mundo, y *Buccinanops* que sólo habita mares del océano Atlántico sudoccidental (Cernohorsky, 1984; Rios, 1994). Este último perteneciente a la subfamilia Bulliinae creada para alojar a un subgrupo anteriormente ubicado en Dorsaninae; el género presenta características conquiológicas que los distinguen de las especies de Dorsaninae (Allmon, 1990; Harasewych, 1998). Las principales características distintivas de Dorsaninae y Bulliinae son la inexistencia de órganos visuales y los tentáculos metapodiales (generalmente dos, aunque puede haber uno o estar ausentes) y la concha en general más fina, elongada y globosa que en los Nassariinae y Cylleninae (Harasewych, 1998).

La subfamilia Bulliinae incluye entre otros al género Indo-Africano *Bullia* (Gray en Griffith y Pidgeon, 1834) y al género *Buccinanops* (d' Orbigny 1841) (Fig. 1.3), endémico del océano Atlántico suroccidental (Penchaszadeh, 1971a, b; Brown, 1982; Allmon, 1990; Pastorino, 1993a). La característica ausencia de ojos de este grupo le valió el nombre, en el caso del género *Buccinanops* descrito por d' Orbigny (1841), por similitud a un "*Buccinum* sin ojos". El conocimiento actual sobre el género

Buccinanops incluye a siete especies con características conquiológicas, anatómicas y reproductivas comunes.

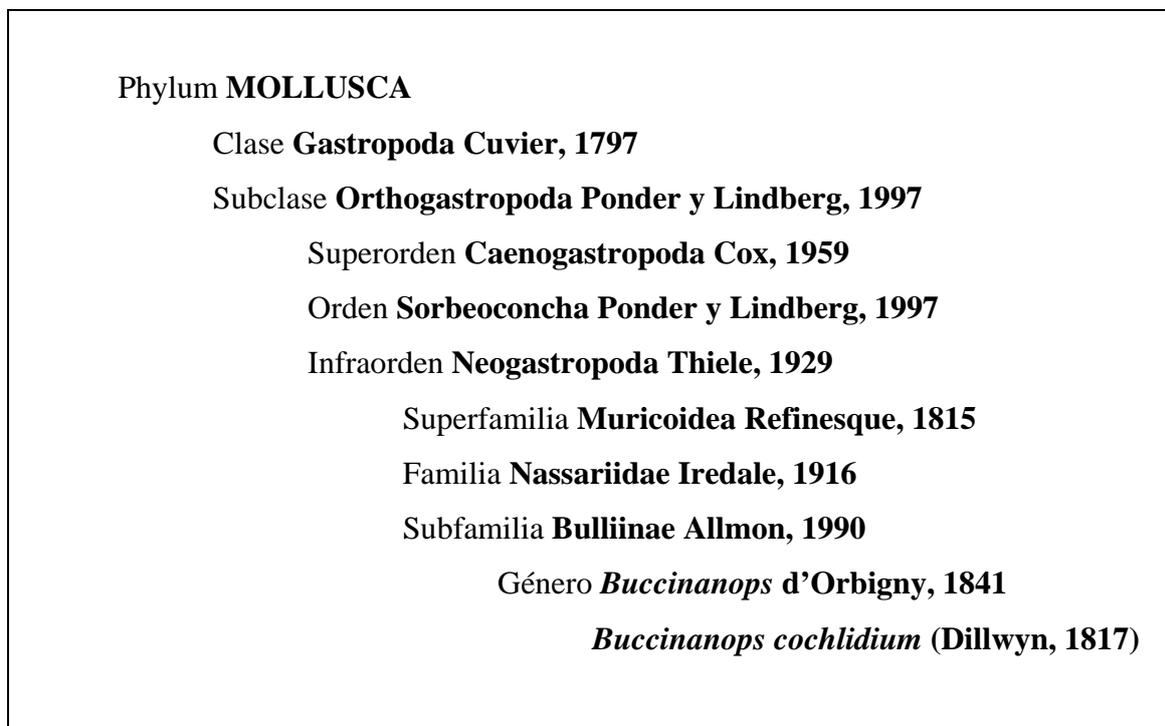


Figura 1.3. Ubicación taxonómica de *Buccinanops cochlidium*.

La distribución del género abarca desde el estado de Espírito Santo, Brasil en 19°S (*B. cochlidium*), y Tierra del Fuego, Argentina en 54°S (*B. paytensis* (Kiener, 1834)). Los individuos adultos son grandes en tamaño, al compararlos con otras especies de la familia. Su concha es de aspecto fusiforme alcanzando más de 10 cm de largo total de concha, típicamente habitan fondos blandos, de aguas someras (Penchaszadeh, 1971a; Cernohorsky, 1984; Pastorino, 1993a; Rios, 1994; Simone, 1996).

Los primeros estudios sobre aspectos de la reproducción y ecología en este género los realizó Penchaszadeh a principio de los años 70 (Penchaszadeh, 1971a; b; 1973). En la actualidad la sistemática del grupo está aún en discusión (Cernohorsky, 1984; Pastorino, 1993a; Rios, 1994; Simone, 1996). El género afín *Bullia* de fondos arenosos poseen una serie de características comunes con los *Buccinanops* que lo posicionan como el mejor grupo comparativo actual. Comparten características ecológicas, comportamentales y reproductivas, entre otras, así como un origen común (Brown, 1982; Allmon, 1990; Harasewych, 1998). Luego de la separación del antiguo continente Gondwana y la primera incursión marina entre los actuales continentes de

África y Sudamérica (Reyment, 1980; Allmon, 1990), ocurre la divergencia entre ambos grupos a partir de algún ancestro común (durante el período Cretácico, 80-120 ma) (Sepkoski y Hulver, 1985; Allmon, 1990). Las especies de *Bullia* se distribuyen en el actual continente Africano y la India, y las especies de *Buccinanops* en Sudamérica. El género *Bullia* cuenta actualmente con la mayor cantidad, diversidad y minuciosidad de estudios de la subfamilia encontrados en la bibliografía. Brown (1982) y Allmon (1990) entre otros sintetizan gran parte del conocimiento sobre la biología y la sistemática de las especies incluidas en *Bullia*. A pesar de algunas sutiles diferencias conquiológicas, anatómicas y otras más marcadas como las reproductivas, es también el grupo filogenéticamente más cercano a *Buccinanops*.

Algunos aspectos ecológicos del género *Buccinanops*, tales como su característica “ceguera” o el cuidado parental de la puesta hasta la eclosión de los juveniles, lo hacen un modelo muy interesante para el estudio de su biología en general, reproducción y ecología poblacional.

1.5 *Buccinanops cochlidium*

Buccinanops cochlidium y *B. monilifer* (Kiener, 1834) (= *Dorsanum moniliferum*) presentan particularidades extraordinarias al género. Estas características distintivas son de carácter conquiológico en el caso de *B. monilifer*, presentando una serie de tubérculos en la última vuelta de la concha que no existen en otras especies del género. En el caso de *B. cochlidium* son de carácter reproductivo. Penchaszadeh (1973) describe algunos aspectos reproductivos de *B. cochlidium*, como *B. gradatum*, con especial énfasis en la puesta y el tipo de modalidad de desarrollo intracapsular; ambos nombres son sinónimos y están basados en ejemplares con diferentes morfologías de conchas coleccionados en sitios latitudinalmente muy distantes (Allmon, 1990) (Fig. 1.4).

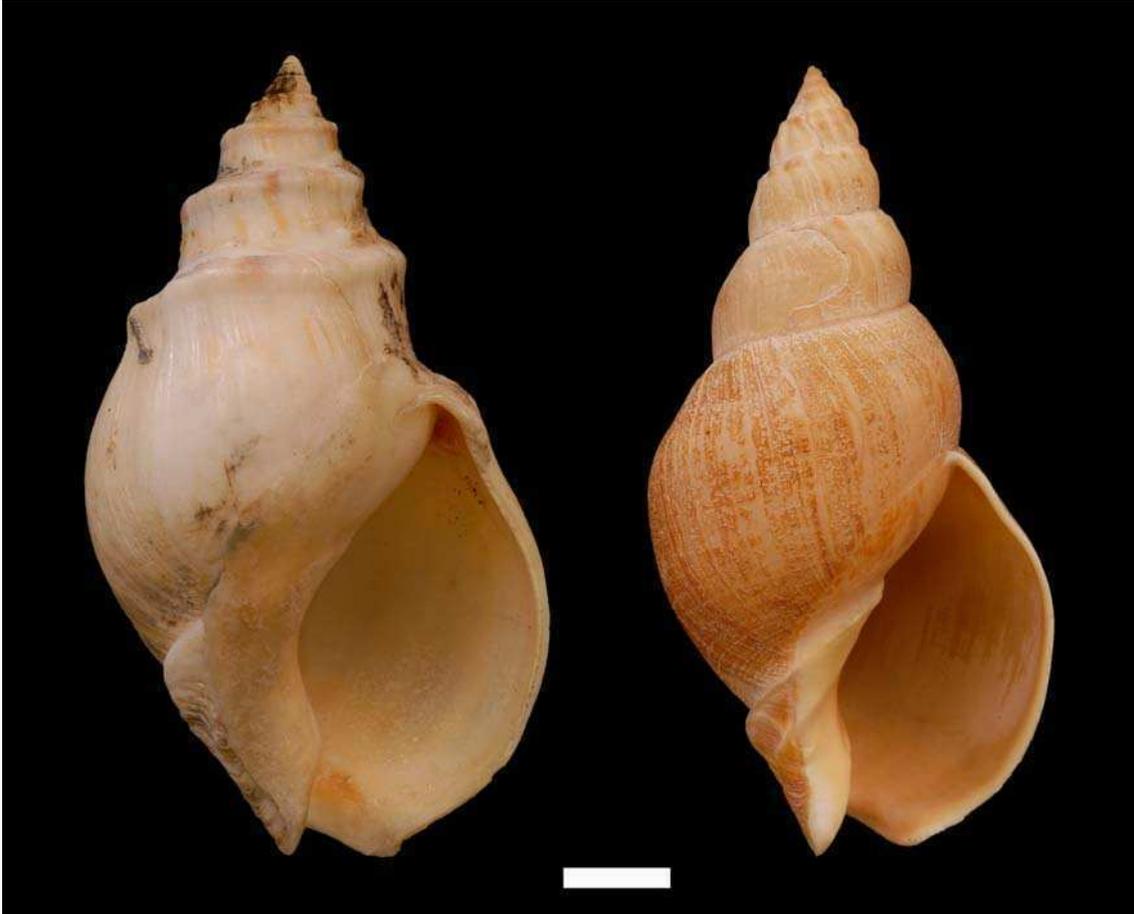


Figura 1.4. Morfotipos de *Buccinanops cochlidium* de Argentina; Izq.: extremo norte (Mar del Plata, Buenos Aires), Der.: extremo sur (Península Valdés, Chubut) Escala: 1 cm.

Como en el resto del género, las ovicápsulas son adheridas a la concha “materna” y el desarrollo completo de los embriones ocurre dentro de las mismas. La eclosión sucede como juveniles reptantes luego de la ingesta de numerosos huevos nutritivos. A diferencia del resto de las especies de *Buccinanops*, en las cápsulas de *B. cochlidium* se desarrollan varios embriones (Fig. 1.5). El número de ovicápsulas, de huevos y de embriones en esta especie es el mayor dentro del género, y las ovicápsulas presentan ornamentaciones exclusivas de la especie (Penchaszadeh 1971a, 1973).

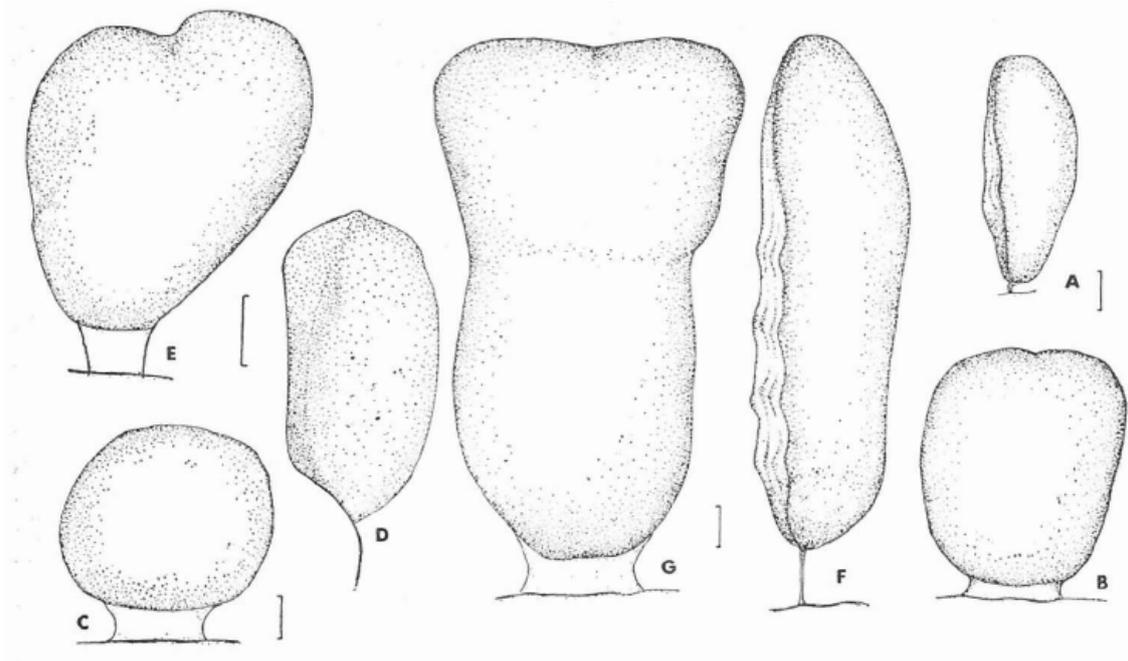


Figura 1.5. Ovicápsulas de especies del género *Buccinanops*: (A-B) *B. globulosus*, (C) *B. deformis*, (D-E) *B. duartei*, (F-G) *B. cochlidium*. Tomado de Penchaszadeh, 1971a. Escalas: 1mm.

La anatomía de *B. cochlidium* fue comparada con la de *B. monilifer* (como *B. gradatum*; Simone, 1996). El status taxonómico del género fue tratado teniendo en cuenta la morfología radular de las mismas especies y la comparación de los géneros afines *Dorsanum* y *Bullia* por Pastorino (1993a) (Fig. 1.6).

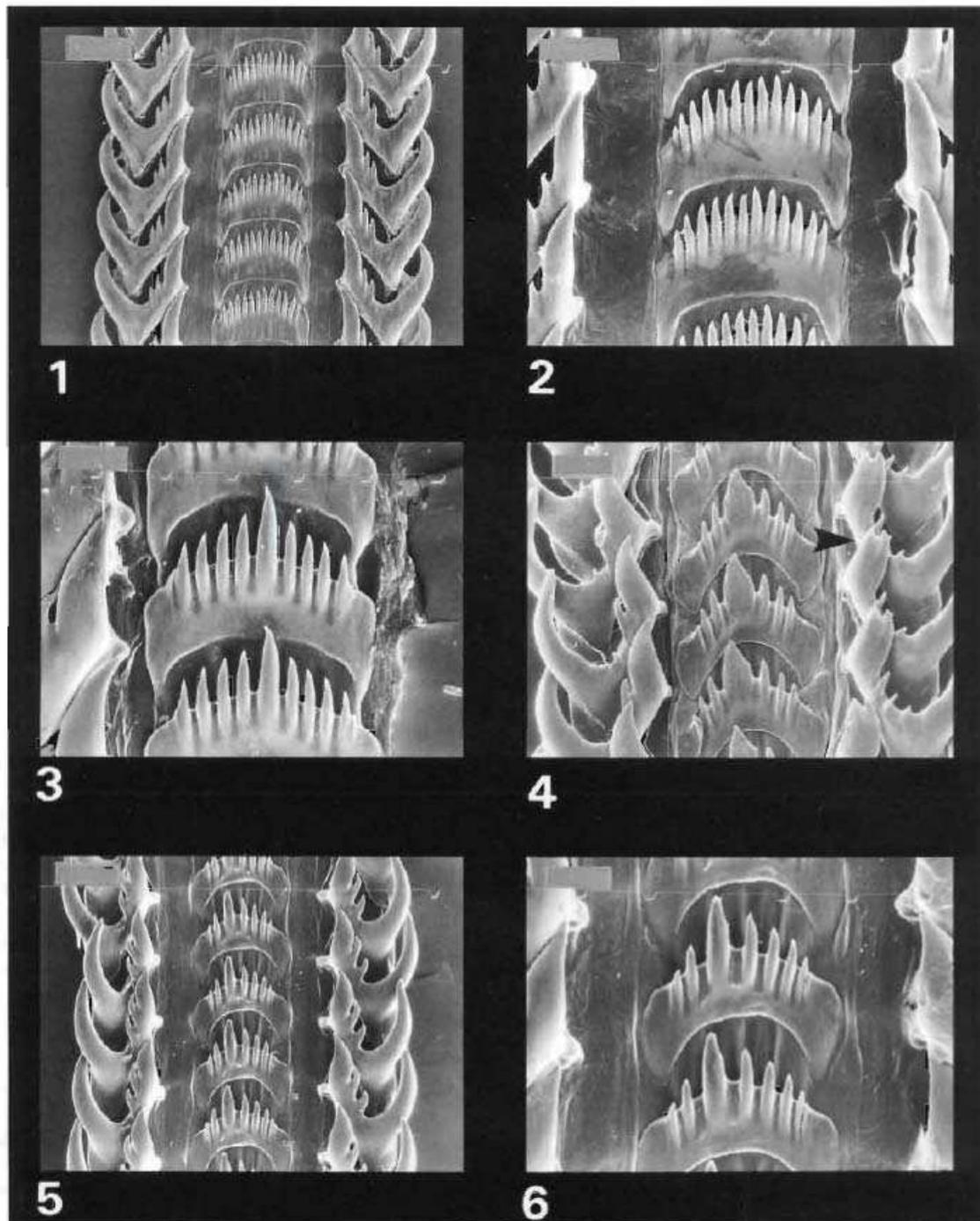


Figura 1.6. Tipos radulares característicos del género *Buccinanops*: 1 a 3- *B. cochlidium*; 4 a 6- *B. monilifer*. Tomado de Pastorino (1993a). Escalas: (1 y 2, 4 y 5)= 500 µm, (3 y 6)= 100 µm.

La distribución de *B. cochlidium* abarca desde Espíritu Santo, Brasil (19°S) hasta el golfo San Matías (43°44'S) según la bibliografía (Carcelles y Parodiz, 1939; Allmon, 1990; Gallardo y Penchaszadeh, 2001), incluyendo toda la provincia biogeográfica Argentina (Fig. 1.7). En algunos trabajos, como ya se enunció anteriormente, se le ha adjudicado el nombre sinónimo *Buccinanops gradatum*, hacia el norte de su

distribución (Guido Pastorino, comunicación personal). Se han observado ejemplares de esta especie inclusive en el golfo Nuevo, en localidades como Punta Pardelas ($42^{\circ}37'S - 64^{\circ}15'O$), aunque no existen citas previas al respecto. La población de *Buccinanops cochlidium* de Patagonia habita aguas templadas costeras en fondos blandos submareales, usualmente entre 2 y 20 metros de profundidad.



Figura 1.7. Distribución específica (Espíritu Santo – golfo San Matías) en rojo y genérica (Espíritu Santo – Tierra del Fuego) en amarillo.

Buccinanops cochlidium es un importante representante de la malacofauna argentina en general y en particular de los golfos norpatagónicos (Fig. 1.8).



Figura 1.8. Ejemplar adulto de *Buccinanops cochlidium* de golfo San José. Escala: 2 cm.

Otro factor relevante es su importancia ecológica y potencialmente comercial, consumida localmente por su buena palatabilidad (observación personal). Es la especie de mayor tamaño del género y la que sigue en tamaño a las volutas, las cuales centralizan las escasas pesquerías de gasterópodos marinos en la Argentina. Por lo tanto representa una alternativa concreta a las pesquerías actuales de volútidos como *Zidona dufresnei*, *Adelomelon brasiliana* y *A. beckii* en la provincia de Buenos Aires, y *Odontocymbiola magellanica* en golfos norpatagónicos del Mar Argentino.

Buccinanops cochlidium es actualmente objeto ocasional de captura pesquera artesanal local (Ciocco, 1999) aunque sus características, ya mencionadas, lo posicionan como potencial recurso pesquero, lo que subraya la importancia de profundizar el conocimiento de la biología reproductiva, antes que su explotación masiva se concrete. Actualmente existe una pequeña pesquería de *B. globulosus*, una especie de menor talla en los golfos norpatagónicos. Algunos datos de captura máxima registrada alcanzan los 9.200 kg por año (Narvarte, 2006). Estudios reproductivos y de dinámica poblacional serán útiles al momento de sugerir pautas de manejo sustentable en caso de que *B. cochlidium* se convierta en un recurso comercialmente explotado.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo general

Estudiar aspectos de la biología de *Buccinanops cochlidium*, con especial énfasis en su biología reproductiva, crecimiento y rol ecológico en las comunidades bentónicas de aguas someras de playa Villarino del golfo San José, provincia de Chubut.

1.6.2 Objetivos particulares

- Identificar la existencia de un ciclo estacional reproductivo. Establecer el tiempo de desarrollo embrionario intracapsular y caracterizar los estadios de desarrollo embrionario. Estimar la fecundidad de la especie.
- Esclarecer la presencia de ojos en estadios embrionarios de *B. cochlidium*, su ultraestructura y destino ontogénico.
- Caracterizar estadios de desarrollo gonádico y reconocer si existe una estación de reposo reproductivo; relacionar con la existencia de un ciclo estacional. Determinar la talla de primera madurez reproductiva. Estudiar el fenómeno de imposex en esta población y sus consecuencias en la reproducción.
- Determinar y caracterizar la existencia del fenómeno de parasitismo y sus consecuencias a nivel individual y poblacional. Caracterizar la dinámica de estos fenómenos en la población estudiada.
- Determinar la densidad poblacional, proporción de sexos y dimorfismo sexual si existiera. Estudiar el crecimiento de la concha y su estructura. Establecer un modelo de crecimiento teórico.
- Identificar el rol ecológico de la especie en la comunidad de los fondos arenosos norpatagónicos por estudio de su dieta e interacción con otros organismos.

2 Metodología general

2.1 ÁREA DE ESTUDIO

El sitio de estudio se encuentra dentro del área natural protegida (ANP) en la Península Valdés, en el lado norte del istmo Ameghino, que corresponde al golfo San José, provincia de Chubut. Se tramitaron los permisos correspondientes de muestreo en la Dirección de Fauna – Administración de Áreas Protegidas, en el marco del proyecto “Moluscos gasterópodos marinos de importancia económica ó ecológica. Biodiversidad” dirigido por el Dr. Pablo E. Penchaszadeh.

La zona se caracteriza por un paisaje semi-árido (según Köppen y Geiger, 1954) con escasa vegetación, arbustiva achaparrada. El relieve es mesetiforme con evidencia de procesos fluviales y marinos. Sobre la línea de costa se observan playas compuestas fundamentalmente por depositación de rodados patagónicos de tamaños variados, pertenecientes a la Formación San Miguel, del Holoceno. La costa está formada principalmente por gravas, arenas y fragmentos de conchas no consolidados. A la vez se observan afloramientos de roca psamítica y pelítica en barrancas y acantilados, que pertenecen a la Formación Puerto Madryn del Mioceno, contemporánea a la Formación Patagonia del Terciario marino existente en el resto de la Patagonia (Haller-Servicio Geológico Minero Argentino, hoja 4363, 2001).

Los muestreos se realizaron en playa Villarino (Fig. 2.1), en un área de 200 metros de radio alrededor del punto geo-referenciado (42°24'10"S; 64°17'26"O) equivalente a aproximadamente 125000 m². Se accede a este sitio por buceo autónomo desde embarcaciones semirrigidas con motor fuera de borda, a una profundidad entre 5 y 10 m en bajamar. Esta playa está compuesta por rodados y arenas gruesas supralitorales y arenas medias a finas en el intermareal. Esta delimitada al oeste por un acantilado activo del Mioceno, perteneciente a la formación Puerto Madryn. Su erosión aporta sedimentos finos al fondo marino somero donde habita *Buccinanops cochlidium*.

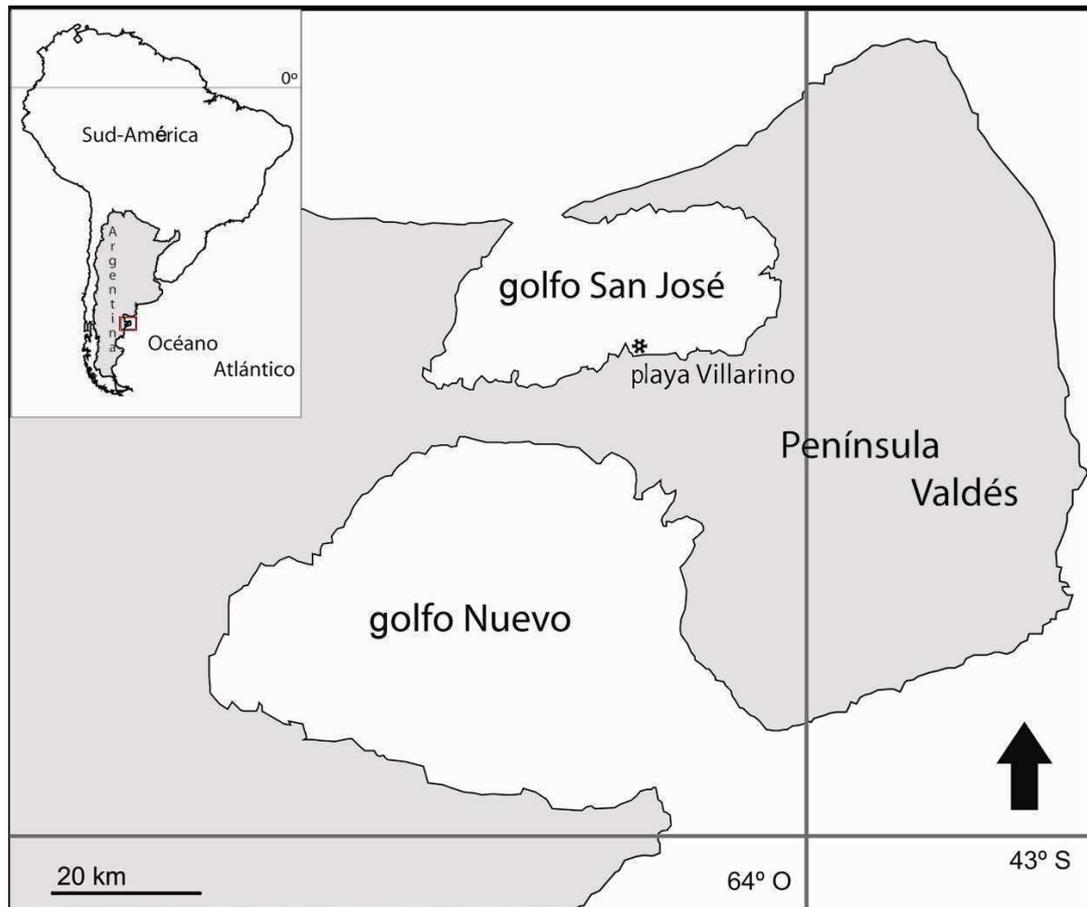


Figura 2.1. Sitio de estudio: playa Villarino en el golfo San José, Península Valdés (Patagonia).

El fondo es mixto con afloramientos de roca que disminuyen en cantidad y tamaño al alejarse del acantilado hacia el este. El resto del fondo en el submareal es blando con sedimentos finos y gran cantidad de fracciones de conchas de moluscos, hasta los 20 m de profundidad (Fig. 2.2).

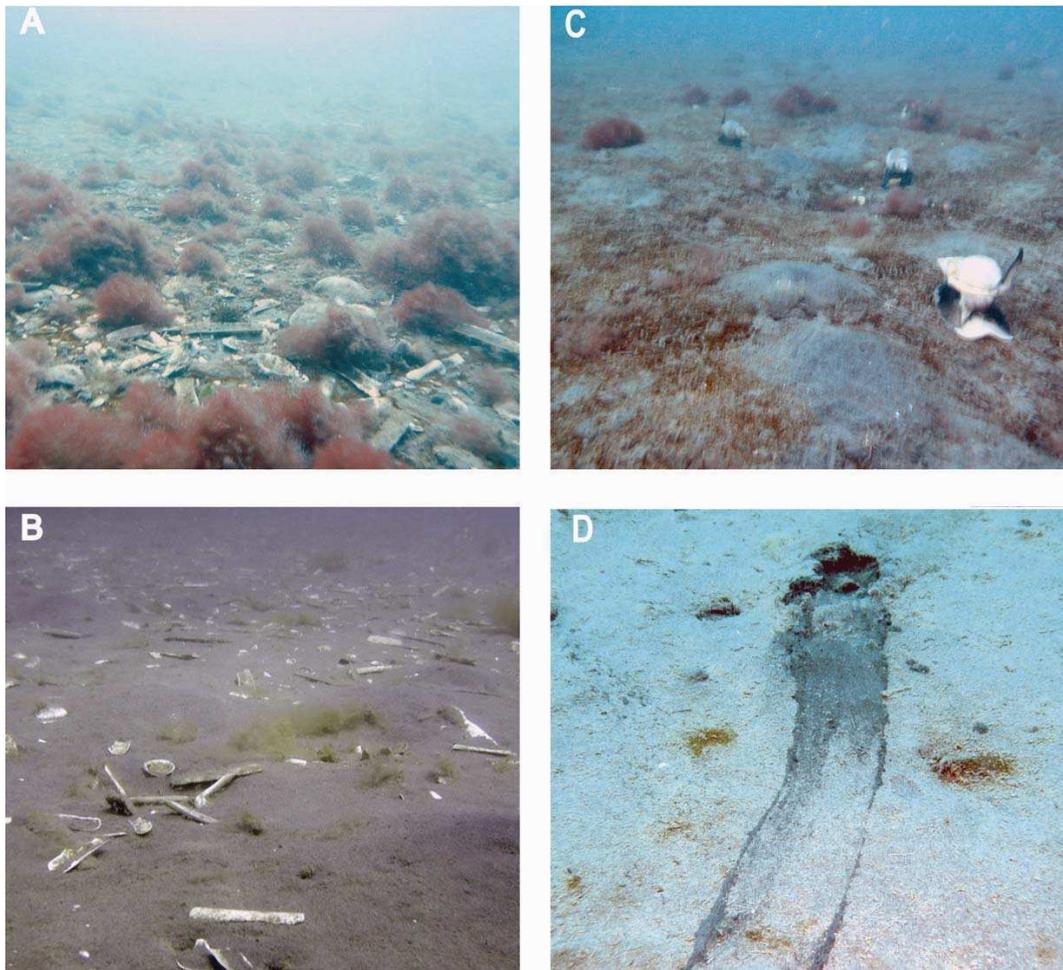


Figura 2.2. Fondo marino en playa Villarino. A- Zona con alta densidad de valvas vacías; B y C- Zona de sedimento fino con baja densidad de valvas y sin ellas, donde habita *B. cochlidium*; D- Rastro dejado por un caracol luego de desenterrarse.

El régimen de mareas es semidiurno con amplitudes máximas reportadas de hasta 8 m (Amoroso, 2003) (Fig. 2.3). La pendiente es muy baja, lo cual determina que la línea de costa se mueva horizontalmente más de 500 m, mezclando el agua en la zona somera. En golfo San José la temperatura superficial del agua varía anualmente entre 9 y 18 °C (Bigatti, 2005) y el fotoperíodo varía entre 9 y 15 horas de luz. Por su ubicación relativa en el golfo y la característica del acantilado lateral, los regimenes de vientos S y O favorecerían el trabajo en el agua, al menos cuando eran inferiores a 30 km/h. En cambio con vientos N y E de más 10 km/h no se pudieron realizar los muestreos.



Figura 2.3. Amplitud mareal. Arriba: marea media, bajando; se observa sobre el acantilado la línea clara de pleamar. Abajo: marea baja.

Además de *B. cochlidium* en el área se observa poca diversidad de moluscos gasterópodos asociados a fondos blandos, entre ellos los más conspicuos son *Odontocymbiola magellanica* (Gmelin, 1791) y *B. globulosus* (Kiener, 1834), más cercano a la costa. En general la distribución de los mismos se encuentra asociada a bancos de bivalvos entre los que sobresalen las almejas *Tellina petitiana* (d'Orbigny, 1845), *Ensis macha* (Molina, 1782) y *Protothaca antiqua* (King y Broderip, 1832) y en menor densidad *Retrotapes exalbidus* (Dillwyn, 1817) y *Pitar rostratus* (Koch, 1844), así como la vieira *Aequipecten tehuelchus* (d'Orbigny, 1842) entre otros. Otro molusco bentónico que habita el área y forma parte de la comunidad de *B. cochlidium* es el “pulpito” *Octopus tehuelchus* (d'Orbigny, 1834). Entre los crustáceos sobresale la presencia de cangrejos de los géneros *Leurocyclus* (Rathbun, 1897) y *Peltarion* (Jacquinot y Lucas, 1853) y en menor densidad *Ovalipes* (Rathbun, 1898), y también los isópodos del género *Serolis* (Leach, 1818). Cabe destacar la presencia de la anémona *Antholoba achates* (Drayton, 1846) que utiliza las conchas de individuos vivos de *B. cochlidium* como substrato.

2.2 MUESTREOS Y PROCESAMIENTO

Los muestreos se realizaron desde diciembre de 2004 hasta abril de 2008, en un sitio en el que una prospección previa había mostrado la existencia de una población considerablemente densa de *Buccinanops cochlidium*. Entre diciembre de 2004 y noviembre de 2006 se colectaron mensualmente entre 15 y 20 individuos mediante buceo autónomo o apnea a profundidades entre 5 y 20 metros medidos con una ecosonda de mano desde superficie y profundímetro de buceo. En todos los casos se accedió al punto de muestreo desde una embarcación guiada mediante GPS Garmin (GPSMAP 76).

El tiempo de captura dependió de las condiciones climáticas, de visibilidad y de autonomía de buceo, variando entre 20 minutos y 2 horas cuando trabajó sólo un buzo. Se capturaron individuos de todas las tallas encontradas. Los mismos se hallaban generalmente enterrados en el sustrato o desplazándose sobre el mismo, y en otras ocasiones comiendo, copulando u oviponiendo. Los caracoles obtenidos se colocaron en bolsas plásticas con cierre tipo “ziploc” y en aquellos casos en que fueron encontrados comiendo, las presas fueron colocadas en las bolsas conjuntamente.

Además de las muestras de material biológico, se tomaron datos físico-químicos en el sitio de muestreo. La temperatura del agua en el fondo se tomó durante la mayor parte del período de estudio desde diciembre de 2005 hasta el fin del presente estudio, mediante un dispositivo *in situ* de registro de temperatura (termistor, HOBO) cada 6 horas diariamente, colocado con una estaca de hierro (Fig. 2.4) a 50 cm del fondo. Esta información se cotejó con datos de temperatura superficial del agua obtenida en base a imágenes satelitales (Antares – NASA, 2008) en el sitio de muestreo, para cada mes durante el período completo de estudio (2004-2008). De esta manera se complementaron los datos para todo el período de estudio.

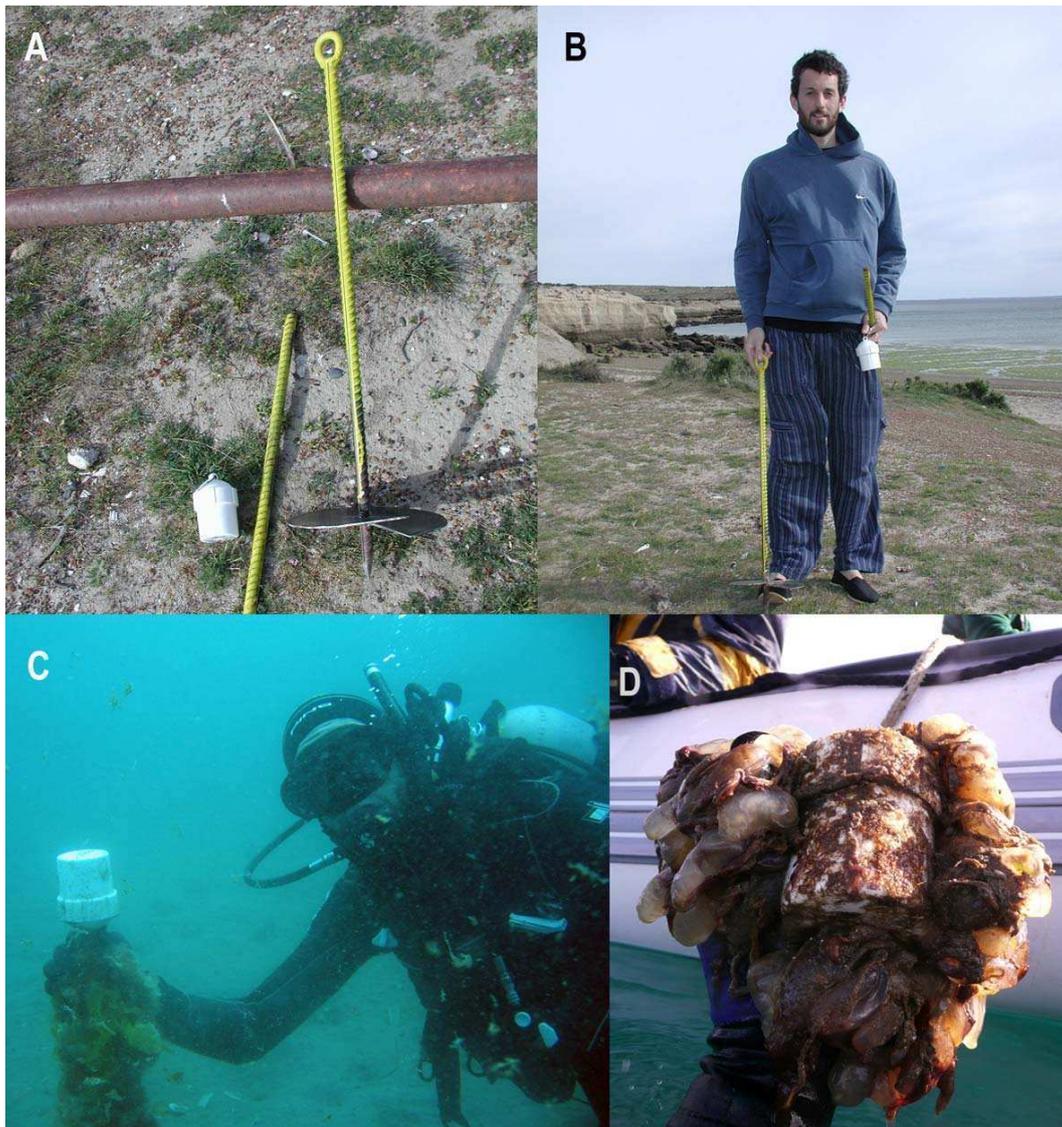


Figura 2.4. Estaca de hierro y termistor (HOBO). A y B- Estaca y termistor antes de ser colocados; C- Equipo al ser reencontrado en el fondo del mar; D- Al ser recuperado, se observa la abundante epibiosis.

La salinidad y el pH se registraron *in situ* durante el período de estudio mediante un salinómetro Vista A366ATC y un medidor de pH digital Hanna.

Todas las observaciones realizadas en el campo mediante buceo autónomo fueron registradas con una cámara digital de 7,2 Megapíxeles y su cámara estanca específica (Panasonic Lumix TZ3). En el laboratorio, las observaciones se realizaron bajo una lupa Zeiss con luz blanca y/o un microscopio óptico (MO) Zeiss; las mediciones se realizaron con un micrómetro ocular de 0,1 mm de precisión.

Cada muestreo fue procesado completamente en vivo. Se tomaron mediciones del largo total (LT) desde el ápice al extremo del canal sifonal, y largo de la sutura (LS) considerado como el largo extendido de un hilo que sigue toda la longitud de la sutura desde el ápice a la apertura de la concha (Fig. 2.5). Para ello se empleó un calibre vernier de precisión 0,1 mm.

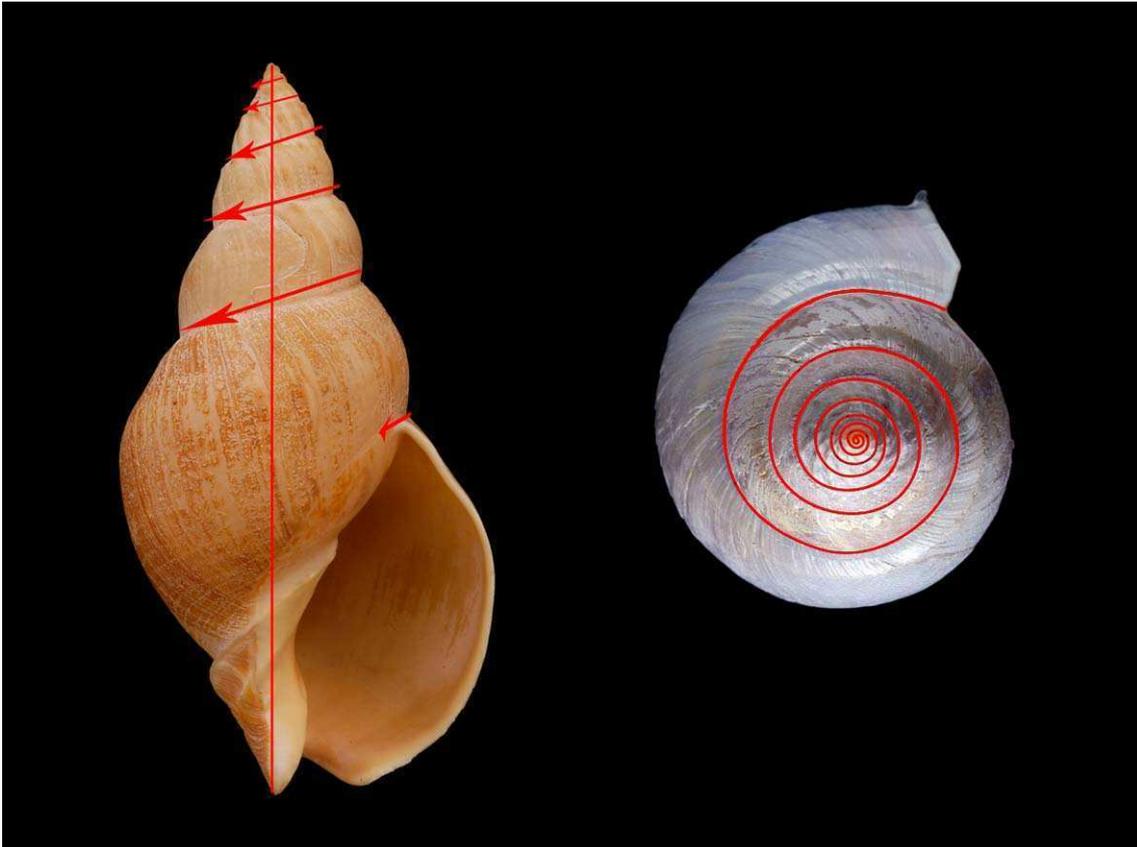


Figura 2.5. Medidas de la concha. La barra longitudinal desde el ápice al extremo del canal sifonal se denominó largo total (LT). Las flechas espirales marcan el sentido de crecimiento, cuya longitud estirada se denominó largo de la sutura (LS).

Cuando fue necesario se mantuvieron los animales en acuarios acondicionados (salinidad a 35‰ a una temperatura de 12 °C, y un fotoperíodo de 12-12 h luz: oscuridad.) hasta el momento del procesamiento. Luego de fracturar la concha con una prensa (sin golpearlo) y retirarla, se observó el aspecto y color gonadal y de las glándulas accesorias (glándula del albumen y de la cápsula). Se registró el peso escurrido total (PT) y de la concha (PC) en una balanza digital de precisión 0,1 g.

El sexado de los animales se realizó según la presencia o ausencia del pene en machos (o hembras imposexadas) y de las glándulas sexuales accesorias (de la cápsula y

del albumen) y gonoporo de la hembra. También se registró la presencia (y número de individuos) de la anémona *Antholoba achatas* sobre la concha de los individuos de *B. cochlidium*, así como de otros organismos epibiontes.

2.3 HISTOLOGÍA

2.3.1 Fijado, conservación y deshidratación

Con el fin de realizar un estudio de histología gonádica, se tomaron piezas cúbicas de aproximadamente 5 mm de lado de la zona media de la gónada, se fijaron en solución Bouin por 2 horas y posteriormente se conservaron en etanol 70% hasta su procesamiento histológico.

Cada pieza fue deshidratada en una secuencia creciente de alcoholes y finalmente en xilol, según se detalla:

1. Etanol 70°.
2. Etanol 80° durante una noche.
3. Etanol 96° 1 hora. Repite otra vez.
4. Etanol 100° 30 min. Repite otra vez.
5. Xilol 30 min. Repite otra vez.

2.3.2 Inclusión en parafina y montaje

Posteriormente se procedió a su inclusión en parafina (3 baños de 20 minutos), enfriado homogéneamente en agua a temperatura ambiente y al tallado de los tacos (o englobado). Se montaron los cortes de 5 μ m, realizados con un microtomo de deslizamiento, directamente sobre los vidrios portaobjetos. Previo paso en estufa por 2 hs, se procedió a su tinción con hematoxilina y eosina:

2.3.3 Tinción

1. Desparafinado en Xilol 3 min.
2. Secado al aire.
3. Etanol 96°.
4. H₂O destilada.
5. Hematoxilina de Harris 7,5 min.
6. Lavado en agua corriente.
7. Eosina 3 min.
8. Etanol 96°.
9. Secado al aire.
10. Carbol-xilol, 3-5 min.
11. Secado y montaje definitivo con DPX (Eukitt).

2.3.4 Inclusión en resina y montaje

En algunos casos, debido a las características del tejido (por ejemplo en hembras con oocitos maduros, con gran cantidad de vitelo) fue necesario realizar cortes de piezas incluidas en resina. La técnica utilizada fue similar, manteniendo los mismos pasos y tiempos para la deshidratación omitiendo el paso por xilol, seguido de la inclusión en resina plástica Historesin® Leica hasta que la pieza quedó sumergida. Las muestras incluidas tuvieron un tiempo de secada mínimo de 48 hs (es aconsejable en zonas como Buenos Aires con clima muy húmedo dejarlos al menos por una semana). Luego se realizaron cortes de 5 µm de espesor con un micrótomo motorizado Leica. La tinción se realizó con la misma técnica descrita anteriormente, aunque los tiempos fueron modificados (en algunos casos a más del doble) respecto de los utilizados para los cortes de parafina, de manera de lograr una intensidad de tinción similar.

2.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Las piezas fijadas y conservadas en etanol (70%) se deshidrataron previamente a la preparación para microscopía electrónica de barrido (MEB), según:

1. Disección de la pieza a montar.

2. Deshidratación

Etanol 70% (v/v)..... conservado (al menos 48 hs).

Etanol 70% (v/v)..... 10 min.

Etanol 80% (v/v)..... 10 min.

Etanol 90% (v/v)..... 10 min.

Etanol 96% (v/v)..... 10 min.

Etanol 100% (v/v)..... 15 min. o hasta PC (máximo 48 hs).

3. Secado mediante punto crítico (CO₂ líquido)

Modelo: EMS 850, marca: Electron Microscopy Sciences.

4. Montaje en porta-especímenes de MEB.

5. Ionización o Metalización (paladio: oro, 60: 40%)

Modelo: Mini Sputter Coater SC7620, marca: Thermo VG Scientific.

6. Observación en MEB, marca: PHILIPS XL30 TMP.

7. Almacenamiento de los preparados con sílica-Gel.

Cuando se trataba de muestras duras y secas (por ejemplo, conchas) se procedió a los pasos 4 a 7 directamente.

2.5 COMPARACIÓN CON OTRAS ESPECIES DEL GÉNERO

A su vez se estudió material recolectado en Mar del Plata (38° 02' S; 57° 33' O) incluyendo las especies *B. cochlidium* y *B. monilifer* (Fig. 2.6).



Figura 2.6. Localidad de muestreo en Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

2.6 ESTADÍSTICA

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con la ayuda del paquete estadístico del programa *Statistica 7.0*, como se detalla en cada capítulo.

CAPÍTULO I

3 Estacionalidad reproductiva y desarrollo embrionario

3.1 INTRODUCCIÓN

Los recursos nutricionales requeridos por los embriones para alcanzar la eclosión luego de un desarrollo intracapsular completo, como juveniles reptantes, son obtenidos de fuentes diversas. Éstas pueden incluir, además de los provenientes del propio huevo fecundado y en desarrollo, numerosos huevos nutritivos que son consumidos por uno o más embriones (modalidad que es llamada adelfofagia). Este es el caso de *Fasciolaria tulipa hollisteri* o especies del género *Trophon* reportados por Penchaszadeh y Paredes, 1996 y por Penchaszadeh, 1976 respectivamente. Otra modalidad implica la oviposición de un huevo de gran tamaño ($> 800 \mu\text{m}$) en cada ovicápsula como en *Prunum prunum* o especies del género *Olivancillaria* referidos por Penchaszadeh y Rincón, 1996 y Borzone, 1995 respectivamente. Asimismo la adición de nutrientes en los fluidos intracapsulares puede complementar los requerimientos energéticos embrionarios, como en algunas especies del género *Buccinum* o *Engoniopus uncinatus* que describe Miloslavich (1996, 1999). Por último, en algunas especies el canibalismo intracapsular de embriones “hermanos” representa un caso extremo de competencia y a la vez de optimización del recurso nutricional (Miloslavich y Penchaszadeh, 2001).

En la familia Nassariidae están representadas tanto la eclosión en estadíos larvales como el desarrollo completo intracapsular, como observó Brown (1982) en distintas especies de *Bullia* y Pechenik (1975) en *Nassarius*, pero nunca se observó la producción de huevos de gran tamaño con desarrollo enteramente lecitotrófico. La ingesta de los huevos nutritivos se realiza mediante distintos mecanismos: 1- la degradación espontánea y posterior ingesta como en especies del género *Trophon* del Mar Argentino (Penchaszadeh, 1976); 2- degradación por rotación de los mismos manipulándolos con el velo ciliado, destrucción mecánica por parte de los embriones e ingesta de las partículas generadas; 3- y la ingesta de huevos enteros, como es el caso de *Buccinum undatum* (Linnaeus, 1758) perteneciente a la familia Buccinidae (una familia hermana de los Nassariidae), según Fioroni (1967).

La producción de las ovicápsulas y su adhesión a sustrato es una característica remarcable considerando el esfuerzo reproductivo que ello implica. En el caso de las especies del género *Buccinanops*, las ovicápsulas son adheridas a la concha de individuos adultos (Penchaszadeh, 1971a, b, 1973). De esta manera se optimiza la utilización de sustrato y el cuidado de las mismas, representando a su vez una inversión energética adicional para la hembra. El tiempo de desarrollo intracapsular varía notoriamente entre especies según la modalidad de eclosión (larva o juvenil) y las características ambientales (Miloslavich, 1996). En este género se desconoce la duración del proceso completo de desarrollo.

El género *Buccinanops* d'Orbigny, 1841 en conjunto con los volútidos y los caracoles del género *Olivancillaria*, son los grupos faunísticos endémicos más abundantes en el bentos de fondos blandos de la provincia malacológica Argentina. Estos tres grupos presentan una diversidad notable en cuanto al modo reproductivo, sin embargo todos concluyen en la supresión de estadíos larvales libres. Los volútidos estudiados producen unos pocos huevos pequeños y encerrados en ovicápsulas gigantes, incorporando en el líquido intracapsular sustancias nutritivas suplementarias para el embrión. Las especies del género *Olivancillaria* producen un único huevo de gran tamaño encerrado en una ovicápsula, mientras que las especies del género *Buccinanops* el desarrollo es directo y con presencia de numerosos huevos nutritivos considerados inviables, encerrados en ovicápsulas en las que completan su desarrollo uno a unos pocos embriones (Penchaszadeh 1971a, b). Todas estas especies son gonocóricas y con fertilización interna.

En los caracoles del género *Buccinanops* la puesta comprende un número variable de ovicápsulas triangulares-rectangulares, foliarias y flexibles que son adheridas a la región del callo de la concha de adultos (Penchaszadeh, 1971a, b). Los embriones completan su desarrollo dentro de la ovicápsula mediante la ingesta de huevos nutritivos, eclosionando como juveniles reptantes a través de una apertura opuesta al pedúnculo de fijación de la ovicápsula (Penchaszadeh, 1971a, b). Actualmente no existe información publicada en este género respecto de la talla de madurez sexual, ciclo reproductivo, o tiempo de desarrollo de los embriones.

Los trabajos previos de Penchaszadeh (1971b, 1973) fueron realizados con escaso material de museo, a partir de los que describió las ovicápsulas y algunos aspectos del desarrollo embrionario de *B. cochlidium*. Según esos trabajos el número de ovicápsulas portadas por una única hembra es el máximo conocido para el género. Usualmente sólo un embrión eclosiona por ovicápsula en las especies estudiadas de *Buccinanops*, pero *B.*

cochlidium es la excepción, con 4 a 10 embriones que ingieren cientos de huevos nutritivos y eclosionan reptando como juveniles (Penchaszadeh, 1971b, 1973). El presente trabajo se basa en abundante material vivo, proveniente de una población que habita un área de baja actividad antrópica en Patagonia.

El objetivo del presente capítulo es describir la estacionalidad reproductiva, cópula, oviposición y desarrollo embrionario, así como algunos parámetros reproductivos tales como fecundidad y talla mínima de oviposición.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se realizó en playa Villarino, golfo San José. Desde diciembre de 2004 hasta noviembre de 2006, se colectaron mensualmente y al azar 20 individuos de *Buccinanops cochlidium* (representando todas las tallas). La longitud total de la concha (LT) y el peso escurrido total (PT) de las partes blandas de cada individuo fueron medidos. Posteriormente los especímenes fueron disectados y sexados.

3.2.1 Estacionalidad reproductiva

Observaciones *in situ* durante los muestreos completaron la interpretación de la biología reproductiva y del desarrollo de *B. cochlidium*. La presencia de individuos copulando fue registrada mensualmente, así como la modalidad de cópula. Se estudió por disección de la *bursa copulatrix* la presencia de espermatozoides móviles. Observaciones mensuales fueron realizadas durante el tercer año de estudio (sin colección de material), con el fin de confirmar la estacionalidad reproductiva.

En base al número de puestas y el número total de hembras colectadas se calculó la proporción mensual de oviposición. Las puestas se estudiaron en fresco, y cuando esto no fue posible fueron fijadas con una solución de formaldehído al 4% en agua de mar. Se registró el número de ovicápsulas en cada puesta. Cincuenta puestas fueron seleccionadas del total coleccionado, representando el rango total de tallas de adultos (LT) capturados y excluyendo aquellas incompletas o dañadas, para estudiar el desarrollo intracapsular, y cinco ovicápsulas fueron elegidas al azar dentro de cada una de las 50 puestas. Las medidas de las ovicápsulas registradas fueron el largo total (LTO), ancho máximo (AM) y largo del pedúnculo (LP). La estructura de la pared de las ovicápsulas se estudió mediante

microscopía electrónica de barrido (MEB). Luego fueron disecadas para el estudio del desarrollo intracapsular.

3.2.2 Desarrollo embrionario

El número total de huevos por ovicápsula fue contado bajo un microscopio óptico. El diámetro intracapsular de los mismos fue medido antes del clivaje; para ello 50 huevos fueron elegidos al azar de una de las ovicápsulas estudiadas en cada hembra.

En base a los cambios morfológicos observados, se establecieron nueve estadíos de desarrollo, según los cuales se clasificó a los embriones de cada ovicápsula:

0. Huevo, previo al clivaje; 1. Clivaje: dos a ocho células (macrómeros y micrómeros); 2. Mórula: este estadío se alcanza a un número de células variable según el taxón (Van den Biggelaar y Haszprunar, 1996) desconocido previamente para el género *Buccinanops*; se consideró una mórula a embriones redondeados multicelulares sin velo ni otra estructura larval; 3. Estadío “veliger” temprana: velo ciliado y estómago vacío; 4. Estadío “pediveliger”: velo y pie conspicuos y estómago con huevos; 5. Estadío “veliger” tardío: embrión grande y redondeado con una concha fina, y el estómago lleno de huevos nutricios; 6. Estadío “veliconcha”: la protoconcha crece en forma espiral, el estómago se reduce, y el velo se reabsorbe; 7. Pre-eclosión: la protoconcha juvenil no está coloreada y el se completa el desarrollo del tubo digestivo, en el ápice de la protoconcha persiste un saco vacío externo; y 8. Eclosión: juvenil reptante, miniatura del adulto (Tabla 3.1).

El diámetro máximo de los embriones fue medido para cada uno de los estadíos de desarrollo mencionados. El número de individuos eclosionantes fue contado y se midieron los ejemplares de todas las ovicápsulas intactas. Además se registró el largo total de los embriones a la eclosión (LTE).

Tabla 3.1. Estadíos del desarrollo intracapsular.

Estadío	Descripción
0 (Huevo)	Huevo sin clivaje, redondo y blanco.
1 (Clivaje)	Embrión con 2-8 blastómeros (macrómeros y micrómeros).
2 (Mórula)	Embrión redondo previo a la gastrulación.
3 ("Veliger" temprana)	Embrión con velo ciliado, boca y estómago.
4 ("Pediteliger")	Velo desarrollado y cantidad creciente de huevos nutricios en el estómago, Matriz orgánica de la protoconcha. Pie incipiente.
5 ("Veliger" tardía)	Protoconcha delgada calcificada. Pie totalmente desarrollado.
6 ("Veliconcha")	Estadío reptante, con protoconcha espiral. Reabsorción del velo.
7 (Pre-eclosión)	Estadío reptante, con protoconcha calcificada de no coloreada, saco estomacal vacío en el apex.
8 (Eclosión)	Juvenil reptante con protoconcha calcificada, bandas de color violáceas y presencia de opérculo.

3.2.3 Experimento en acuario

Durante agosto de 2005, se colectaron cuatro hembras portando ovicápsulas, cuyas ovicápsulas fueron las primeras en aparecer en el año (luego de meses de inactividad de oviposición). Se encontraban evidentemente recién depositadas (sin embriones y sólo con huevos no clivados), por lo que fueron consideradas como estadío 0. Los animales se colocaron en acuarios acondicionados según lo registrado en el sitio de muestreo.

Con la finalidad de determinar el tiempo de desarrollo desde el huevo no clivado hasta la eclosión, en condiciones de laboratorio (acuarios), estos individuos se mantuvieron vivos y separados en acuarios acondicionados según lo descrito anteriormente. Cada semana cinco ovicápsulas fueron separadas de la puesta, disecadas, y se registró el estadío de desarrollo alcanzado.

3.2.4 Comparación con *Buccinanops monilifer*

Con el fin de estudiar diferencias en las modalidades dentro del género, el desarrollo intracapsular de *B. cochlidium* se comparó con el de *Buccinanops monilifer* (con un único embrión eclosionante por ovicápsula). Se estudia con especial atención el tipo de alimentación intracapsular, al número de eclosionantes y la posible existencia de canibalismo embrionario. Se revisaron especímenes de *B. monilifer* recolectados entre diciembre de 1995 y diciembre de 2006 en Mar del Plata (MdP). El material se colectó con redes demersales de arrastre de fondo, desde embarcaciones pesqueras a una profundidad que osciló entre 5 y 20 metros. Los individuos se midieron (LT) y sexaron como fue previamente descrito para *B. cochlidium*. Las puestas encontradas fueron fijadas en una solución de formaldehído 4%.

Las ovicápsulas de cada puesta fueron contadas. Tres ovicápsulas fueron elegidas al azar de cada puesta, separadas y disectadas. El número de huevos fue contado en todas las ovicápsulas donde no se observaron embriones con velo (estadio en el que comienzan a ingerir huevos). El diámetro de los huevos fue medido intracapsularmente y previo a la segmentación. Para ello se separaron al azar 10 a 25 huevos de cada ovicápsula. Los embriones en cada ovicápsula se contaron, se midieron (LTE), y se identificaron según estadios de desarrollo definidos para *B. cochlidium*.

3.2.5 Estadística

La relación entre el LT de los animales portando ovicápsulas y el número de ovicápsulas se analizó mediante una regresión lineal. Los residuos de una regresión lineal entre PT y LT fueron utilizados para calcular el índice de condición de las hembras (IC) (según Hargitai *et al.*, 2005). Se estudió la relación entre IC y el número de ovicápsulas mediante una regresión lineal. La relación entre el número de embriones por ovicápsula y LTE fue también estudiado mediante un análisis de regresión lineal.

3.3 RESULTADOS

Las temperaturas registradas *in situ* en el fondo y las de temperatura superficial, obtenidas de la base de datos de imágenes satelitales presentaron tendencias similares durante el período de estudio, variando estacionalmente entre un mínimo cercano a 10 °C en septiembre, y un máximo de 18,5 °C en marzo (Fig. 3.1).

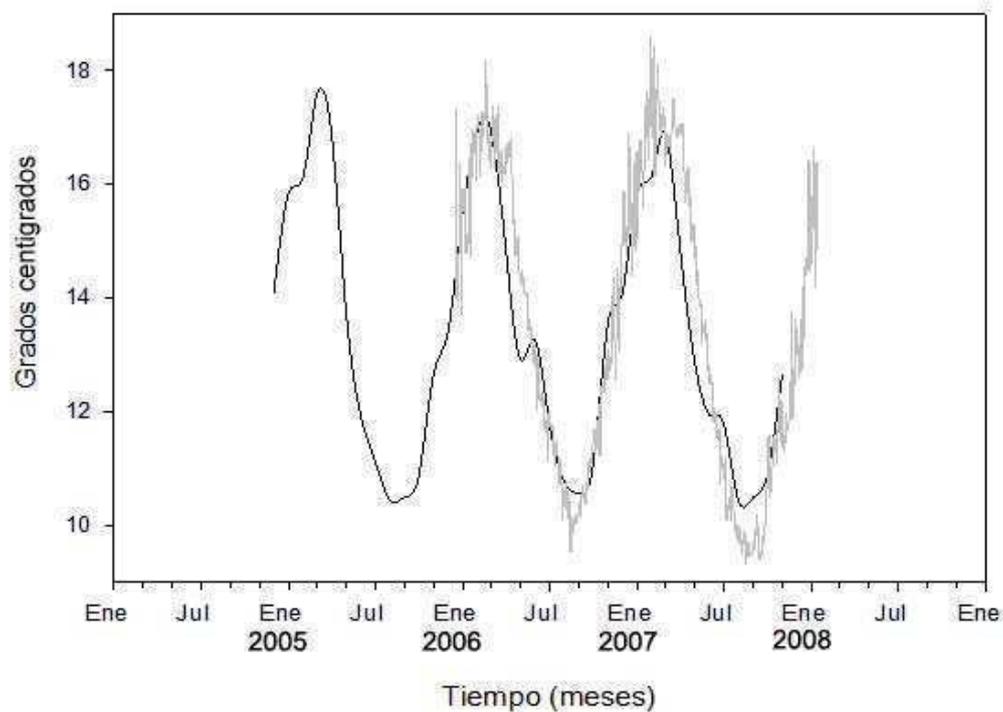


Figura 3.1. Temperatura del agua superficial (por imágenes de satélites: línea negra) y de fondo (con termistor *in situ*: línea gris) para el período 2005-2007, en playa Villarino (golfo San José).

3.3.1 Estacionalidad reproductiva

Se observaron individuos copulando en el campo entre marzo y octubre, en ambos años (2005 y 2006). Durante la cópula, comúnmente los machos se encontraron semi-enterrados, sujetando con su pie la concha de la hembra que estaba totalmente enterrada. Ambos se posicionaron en paralelo y orientados en la misma dirección (Fig. 3.3 A). El macho introdujo su pene aplanado y elongado en la cavidad del manto de la hembra, hasta alcanzar la vagina (Fig. 3.3 B). La frecuencia de cópula observada aumentó hacia el final del período (en los meses previos al pico de máxima oviposición, en octubre). Se

observaron espermatozoides con movilidad almacenados en la *bursa copulatrix* de hembras capturadas entre marzo y octubre. La Tabla 3.2, coincidente con la época de cópula.

Tabla 3.2. Eventos de cópula y oviposición en el campo, y registro de espermatozoides vivos en la *bursa copulatrix* de las hembras (período 2005-2006). *Alta frecuencia.

Meses	Cópula	Ovicápsulas	Esperma en <i>bursa</i>
			<i>copulatrix</i>
Ene	NO	SI	NO
Feb	NO	SI	NO
Mar	SI	NO	SI
Abr	SI	NO	SI
May	SI	NO	SI
Jun	SI	NO	SI
Jul	SI*	SI	SI
Ago	SI*	SI	SI
Sep	SI*	SI	SI
Oct	SI	SI*	SI
Nov	NO	SI*	NO
Dic	NO	SI	NO

Los 88 individuos portadores de ovicápsulas, encontrados durante los 2 años de recolección de material de estudio (n= 429), fueron hembras y midieron entre 80 y 102 mm de LT.

La proporción de hembras (n= 219) portando ovicápsulas por mes se expresa en la Figura 3.2.

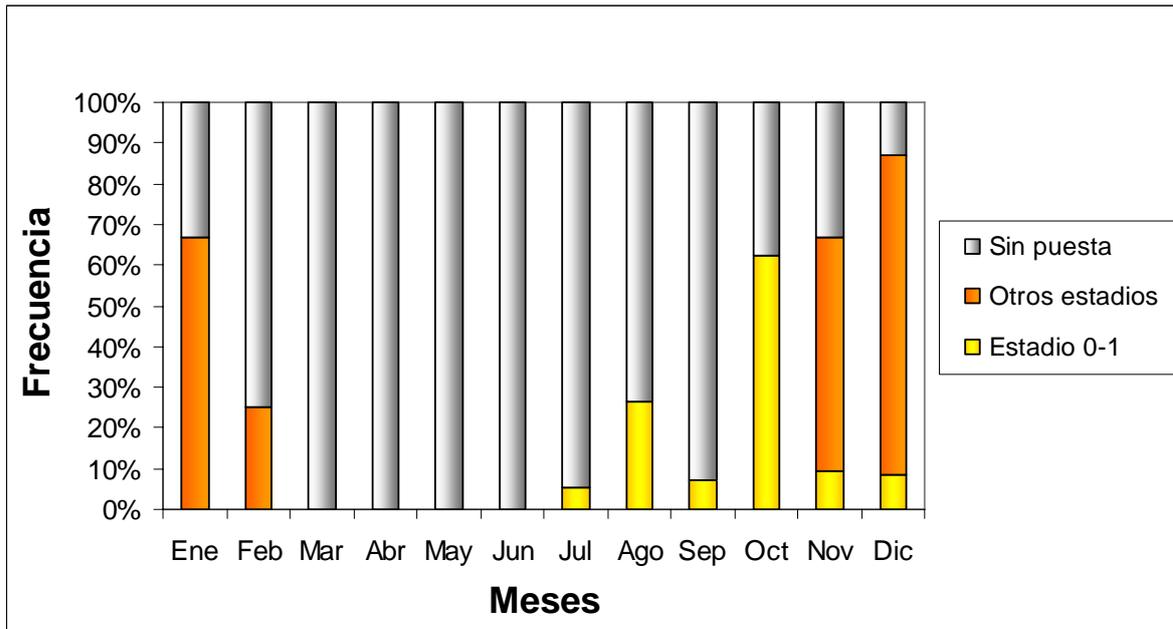


Figura 3.2. Frecuencia de hembras portando ovicápsulas. Se muestra el porcentaje mensual de hembras con puesta en estadio 0-1 y otros más avanzados (período 2005-2006).

Página siguiente: Figura 3.3. Cópula y puestas. A- Pareja copulando. El pie del macho (pm) sosteniendo la concha de la hembra (ch); B- Pareja separada, exponiendo el pene (pe) blanco elongado del macho; C- Hembra depositando una puesta (vista dorsal); D- Hembra con la puesta inconclusa; E- Hembra con una puesta completa; F- Hembra reptando sobre el lecho marino, se observan residuos vacíos de la puesta. Escalas: (A-F)= 2 cm. Otras abreviaturas: anémona (aa); concha macho (cm); pie hembra (ph); ovicápsula (oc); opérculo (ope).

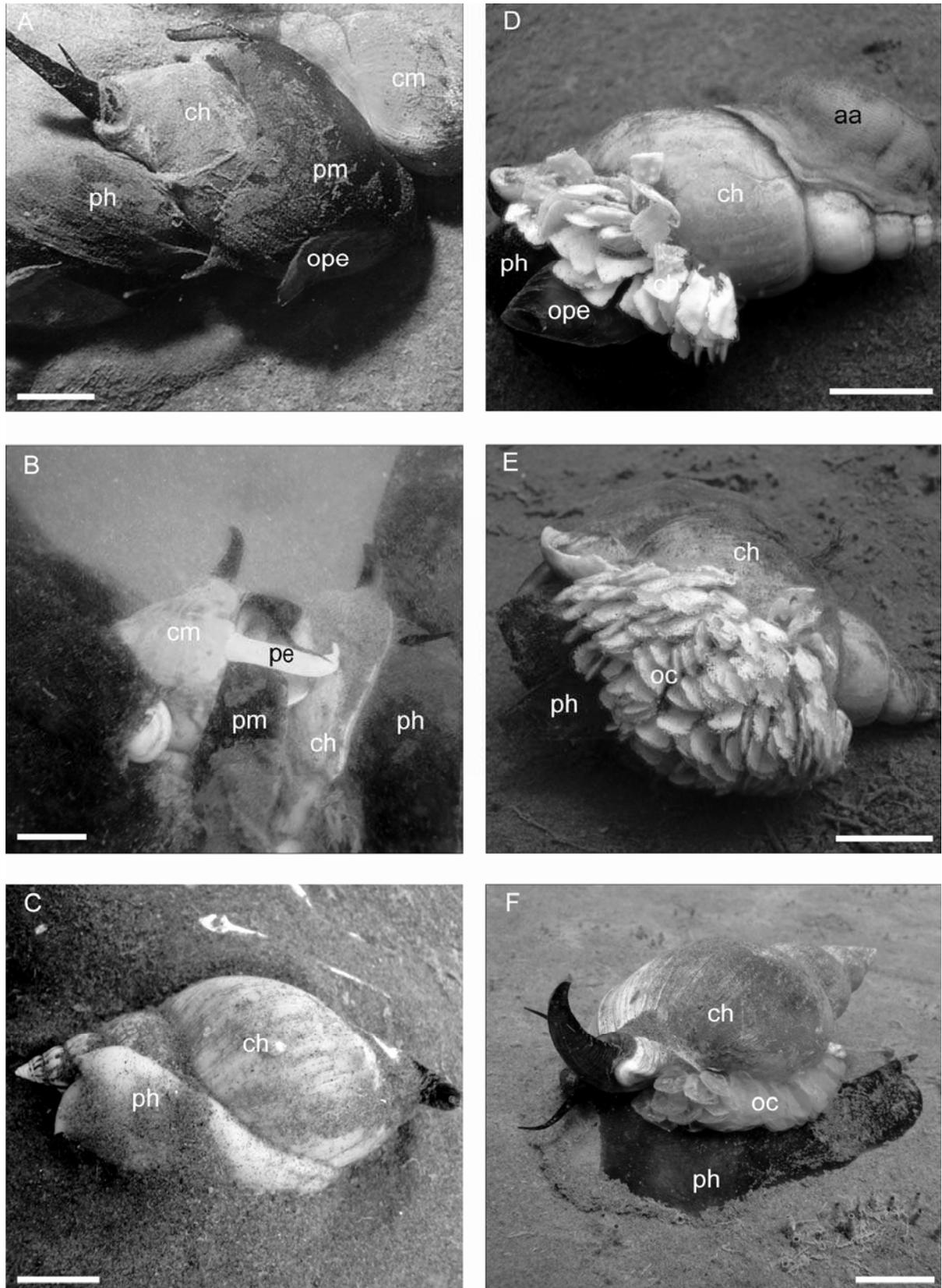


Figura 3.3.

Se encontraron puestas intactas (con huevos y/o embriones vivos) en el campo desde julio hasta febrero, en ambos años (Tabla 3.2). El número de puestas conteniendo ovicápsulas recién colocadas, correspondientes al estadio 0 (huevos sin clivar) ó 1 (división celular hasta 8 células) aumentaron desde julio hasta octubre, y luego decreció abruptamente en noviembre. La frecuencia máxima de puestas observadas (independientemente del estadio) ocurre entre octubre y febrero. En marzo todas las hembras se encontraban libres de ovicápsulas o poseían residuos vacíos de las mismas. El mismo patrón estacional observado durante los años muestreados (2005 y 2006) fue confirmado por observaciones hechas el año siguiente (2007).

Las puestas consistieron de $142,2 \pm 30,0$ ovicápsulas (media \pm DS) (rango= 80 – 238; n=50) adheridas a la concha materna por medio de un pedúnculo corto de $1,4 \pm 0,5$ mm de LP en promedio (n=97). Las ovicápsulas son aplanadas y largas, de forma triangular a rectangular; midieron $14,3 \pm 1,2$ mm (n=97) de LTO y $8,6 \pm 0,7$ mm (n=97) de AM (Tabla 3.3). Las ovicápsulas adheridas por las hembras se disponen en hileras paralelas al labio interno de la apertura de la concha, hacia el exterior de la región del callo. En una única oportunidad (durante julio) se observó y fotografió a una hembra no enterrada y con el pie extendido y replegado sobre la concha, acercando la cavidad del manto (y el gonoporo) a la zona del callo de la misma, mientras oviponía (Fig. 3.3. C). Las ovicápsulas pertenecientes a una puesta incompleta siempre estaban situadas en la región del callo, cercanas al labio interno de la apertura de la concha (Fig. 3.3. D). Las Figuras 3.3 E y F muestran una puesta completa y una hembra portando los residuos de una puesta ya eclosionada completamente.

Las ovicápsulas más alejadas de la zona del callo las últimas en ser adheridas. Todas las ovicápsulas poseen una serie de ornamentaciones en forma de picos (Fig. 3.4), en la cara que se orienta hacia el cuerpo del caracol, mientras que la otra cara es lisa. La Figura 3.5 C muestra un corte de la membrana de una ovicápsula donde se observan al menos las 3 capas que la integran y las Figuras 3.5 A y B muestran la zona de apertura de la misma en la zona opuesta al pedúnculo. La Tabla 3.3 resume la información de las mediciones de las ovicápsulas. La Tabla 3.4 resume los aspectos reproductivos de esta especie.

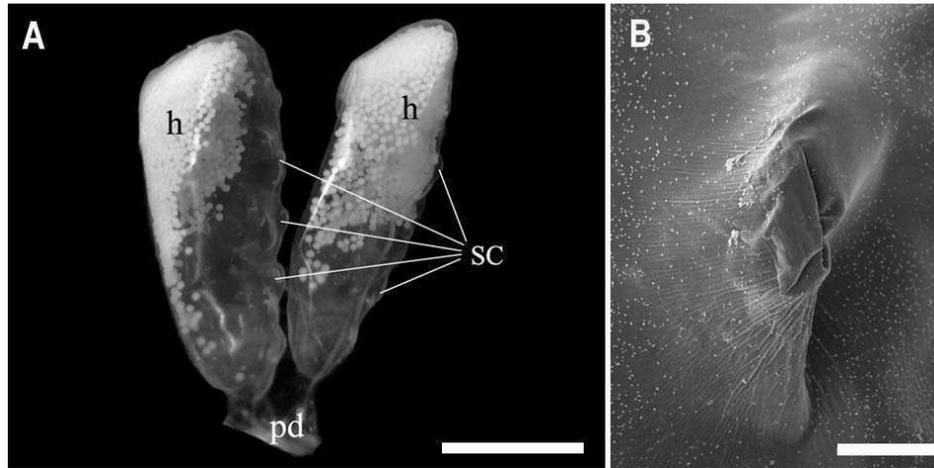


Figura 3.4. Detalle de las ovicápsulas. A- Se observan los huevos (h), pedúnculo (pd) y las ornamentaciones (sc) características en esta especie. B- Detalle de una ornamentación en MEB. Escalas: (A)= 0,5 cm; (B)= 200 μ m.

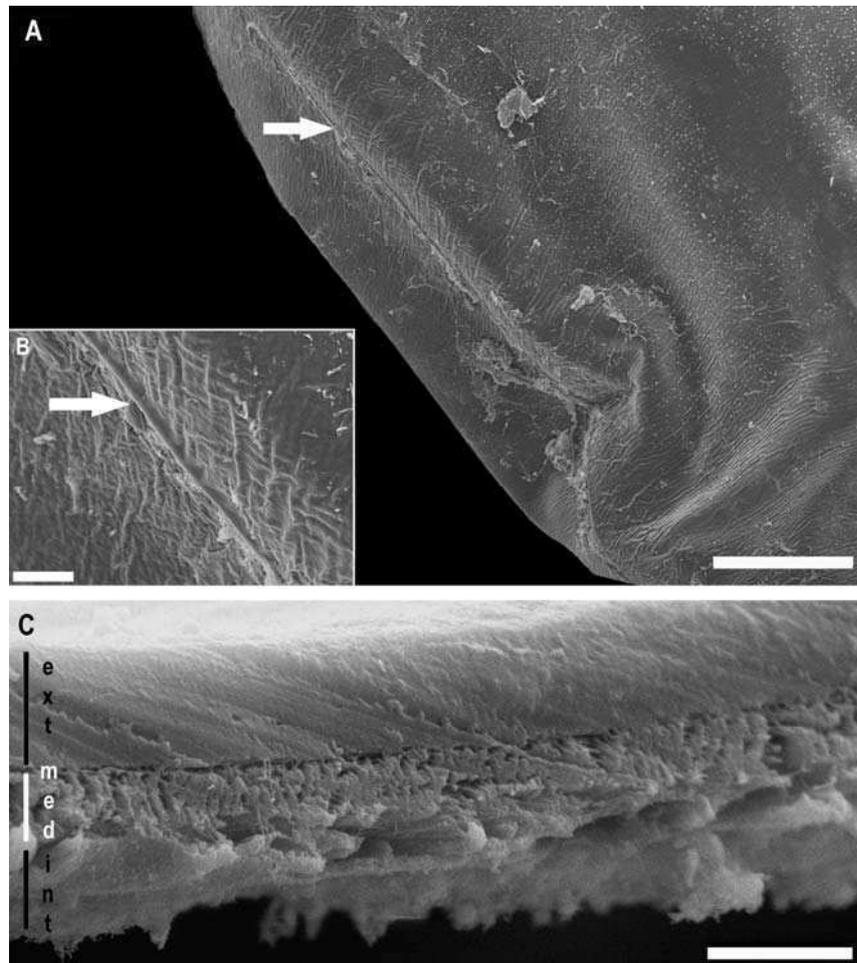


Figura 3.5. Detalle de las ovicápsulas. A y B- Zona de la apertura; C- Corte de la membrana con las 3 capas (externa, media e interna). Escalas: (A)= 500 μ m; (B)= 50 μ m; (C)= 5 μ m.

Tabla 3.3. Morfología y Morfometría de la ovicápsula de *B. cochlidium*. Los valores corresponden al promedio de LTO, AM y LP \pm DS y rango (entre paréntesis).

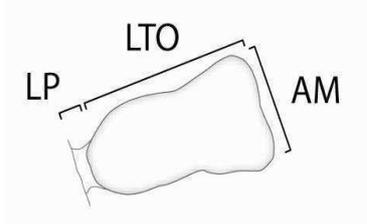
Aspecto de la ovicápsula	AM (mm)	LTO (mm)	LP (mm)
	8,6 \pm 0,7	14,3 \pm 1,2	1,4 \pm 0,5
	(5,9 - 10,2) n=97	(11,7 - 17,7) n=97	(0 - 2,9) n=97

Tabla 3.4. Aspectos reproductivos de *B. cochlidium*. Los valores corresponden a los promedios \pm DS y rango (entre paréntesis).

LT (mm) de hembras ovipositoras	# de ovicápsulas por hembra	# de huevos por ovicápsula	Diámetro del huevo (μ m)	# de embriones eclosionantes por ovicápsula	LTE del juvenil eclosionado (mm)
90,8 \pm 4,8	142,2 \pm 30,1	3101,5 \pm 494,3	227,5 \pm 13,5	5,4 \pm 2,5	4,0 \pm 0,6
(80 -102)	(80 - 238)	(2005 - 3898)	(160 - 320)	(1 - 20)	(2,4 – 7,0)
N=50	n=50	n=50	n=2500	n=172	n=626

La relación entre el LT de la hembra y el número de ovicápsulas por puesta no es explicada por una regresión lineal (F= 1,82; p> 0.05; n=50). Debido a este resultado no es posible analizar la relación entre índice corporal (IC) y el número de ovicápsulas por puesta; en cambio se analizó la relación entre peso (PT) y el número de ovicápsulas por puesta, pero tampoco se encontró una relación lineal significativa (F= 1,30; p> 0.05; n=29).

3.3.2 Desarrollo embrionario

El diámetro promedio de los huevos previo a la segmentación fue de 227,5 \pm 13,5 μ m (media \pm DS) (n=2500). Cada ovicápsula contuvo en promedio 3101 \pm 494 huevos (rango= 2005 – 4119; n=50 tomados de 10 hembras) (Fig. 3.6. A). Esos huevos siguen una división celular típica espiral holoblástica. El patrón de clivaje se caracterizó por la aparición de un corpúsculo polar conspicuo (Fig. 3.6. D), previo a la primera división celular. El cigoto se particiona desigualmente (Fig. 3.6. B) lo que da origen a macrómeros y

micrómeros en las subsecuentes divisiones celulares (Fig. 3.6. C); pasando por cortos estadios de mórula y gástrula (Fig. 3.6. D).

No se observó un estadio equivalente a una larva “trocófora” en el material estudiado. En el estadio “veliger” intracapsular, los embriones comienzan a ingerir los huevos que tienen una función nutritiva, los cuales pasan enteros a través de la boca y esófago. Los huevos nutritivos son manipulados con los lóbulos ciliados del velo y luego introducidos en la boca (Fig. 3.6. E). El estómago en este estadio es un saco ciego que se va llenando paulatinamente de huevos enteros (Fig. 3.6. F, G). Cada embrión ingiere la mayor cantidad posible de huevos mientras están disponibles. Luego de un período largo de ingesta de huevos (Tabla 3.6) llenan sus tubos digestivos con un promedio de 570 ± 199 huevos. La digestión de los mismos sucede a la vez que se desarrolla una frágil matriz de concha. Luego sucede el crecimiento de la misma (Fig. 3.6. H) y la espiralización (Fig. 3.6. I) de una concha blanquecina. Al mismo tiempo se desarrolla el pie y el velo comienza a reabsorberse. Al final de este proceso el embrión se convierte en un juvenil reptante, pero permanece aún en la ovicápsula hasta que el ápice de la concha (una zona ocupada por los residuos del saco que había almacenado los huevos) se cierra (Fig. 3.6. J). A partir del estadio embrionario “veliger” temprana los embriones desarrollan los tentáculos cefálicos. En la base de cada uno de ellos se observó una mancha oscura que se asemeja a un pequeño ojo. Dado que este es un género de caracoles que carece de ojos, este fenómeno fue estudiado en detalle. Los resultados de este estudio se presentan en el Capítulo II de esta tesis.

De cada ovicápsula entre uno y 20 embriones eclosionaron (promedio= $5,4 \pm 2,5$; $n=172$). El largo (LTE) promedio de la concha a la eclosión fue $4,0 \pm 0,6 \mu\text{m}$ ($2,4-7,0$; $n=626$). Los juveniles reptaron fuera de la ovicápsula a través de una apertura apical opuesta al pedúnculo (Fig. 3.6. K). La concha se observa coloreada con dos bandas violáceas, típicas del género (Fig. 3.6. L). Los estadios de desarrollo correspondiente a las distintas ovicápsulas de la puesta de cada hembra fueron similares, es decir que el desarrollo de los embriones de una puesta fue sincrónico.

Páginas siguientes (45-46): Figura 3.6. Desarrollo embrionario. A- Ovicápsula (oc) en estadio 0 con huevos (h); B- Huevos y embrión en división celular; C- Estadío de 16 células; D- Mórula; E- Estadío “veliger” ingiriendo un huevo; F- “veliger” repleto de huevos con el velo (v) y esófago (e) visible por transparencia; G- “veliger” llena de huevos (h) enteros; H- “veliger” tardía con concha (c) y pie (p) en desarrollo; I- Concha embrionaria creciendo en espiral; J- Estadío pre-eclosión con la concha casi completamente cerrada; K- Juveniles eclosionando de una ovicápsula (oc); L- Juvenil eclosionante. Otras abreviaturas: boca (b); corpúsculo polar (cp); macrómero (ma); micrómero (mi); sifón (sf); estómago (st); velo (v).

Escala: (A)= 2 mm; (B-F) = 500 μ m; (G-L)= 500 μ m.

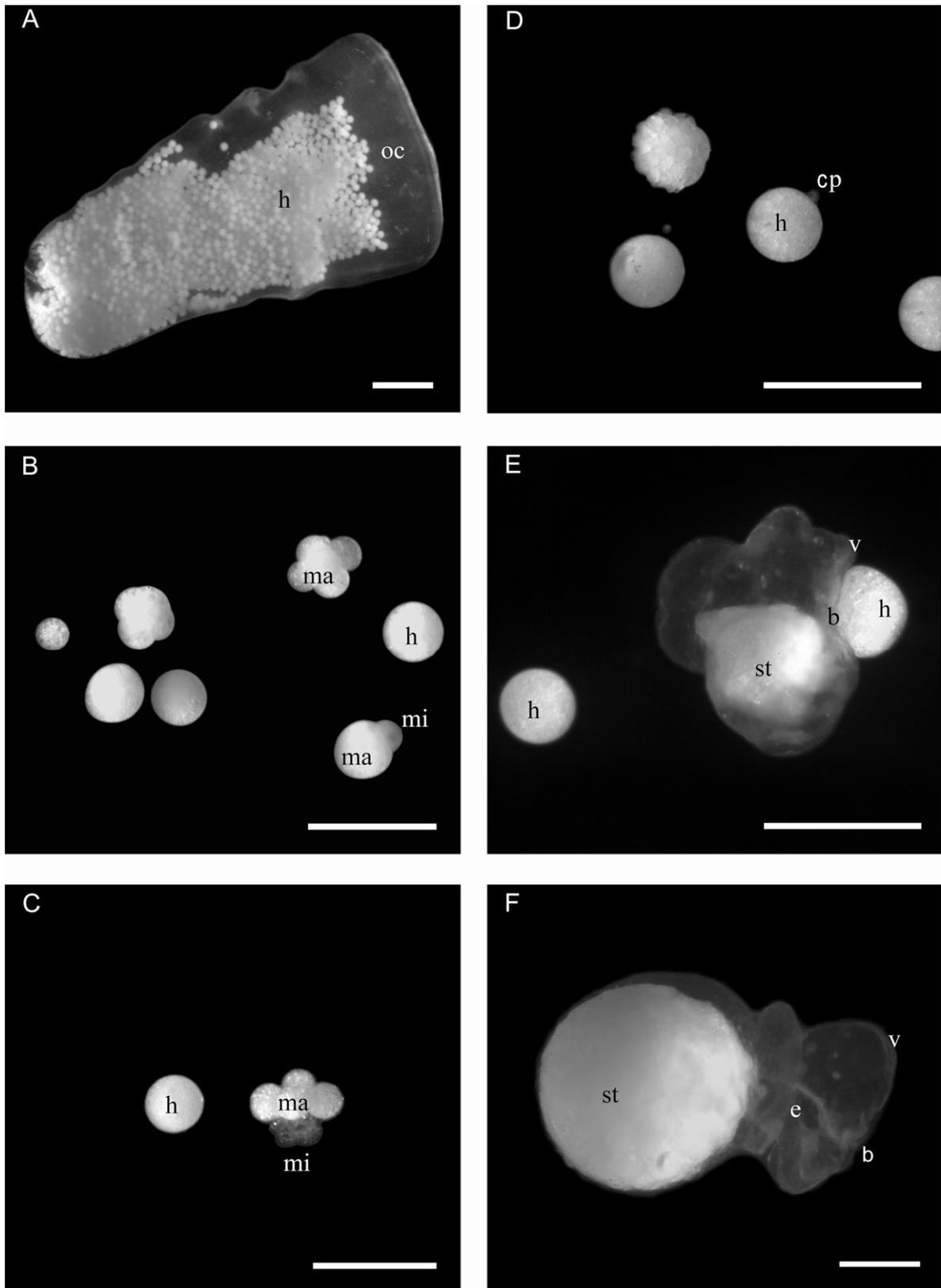


Figura 3.6.

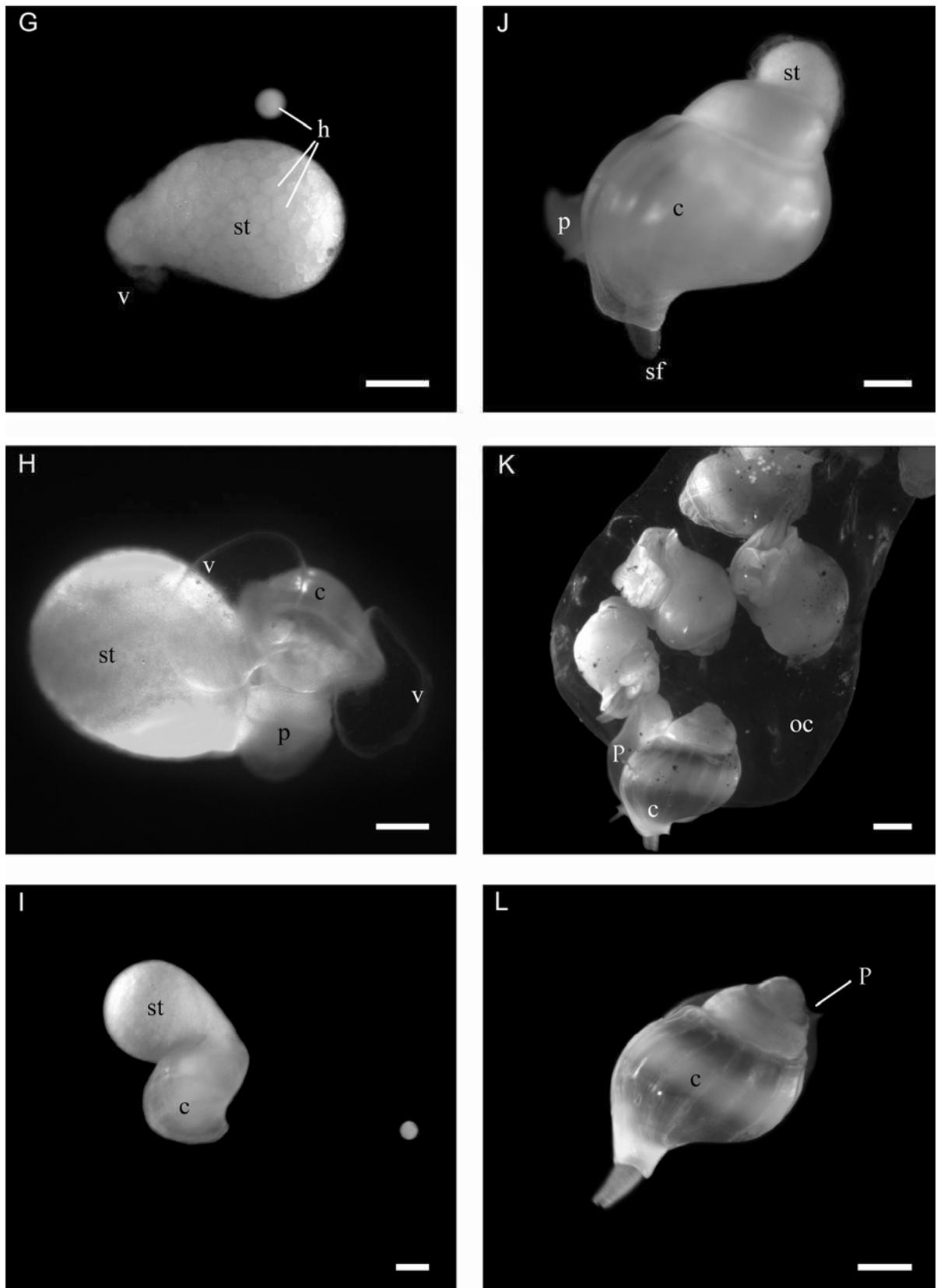


Figura 3.6.

Una regresión lineal explica la relación inversa entre el un número de embriones por ovicápsula y el LTE medio de éstos ($F= 403,7$; $p<0.00001$; $r^2=0,5132$; $n=385$); este resultado se muestra en la Figura 3.7.

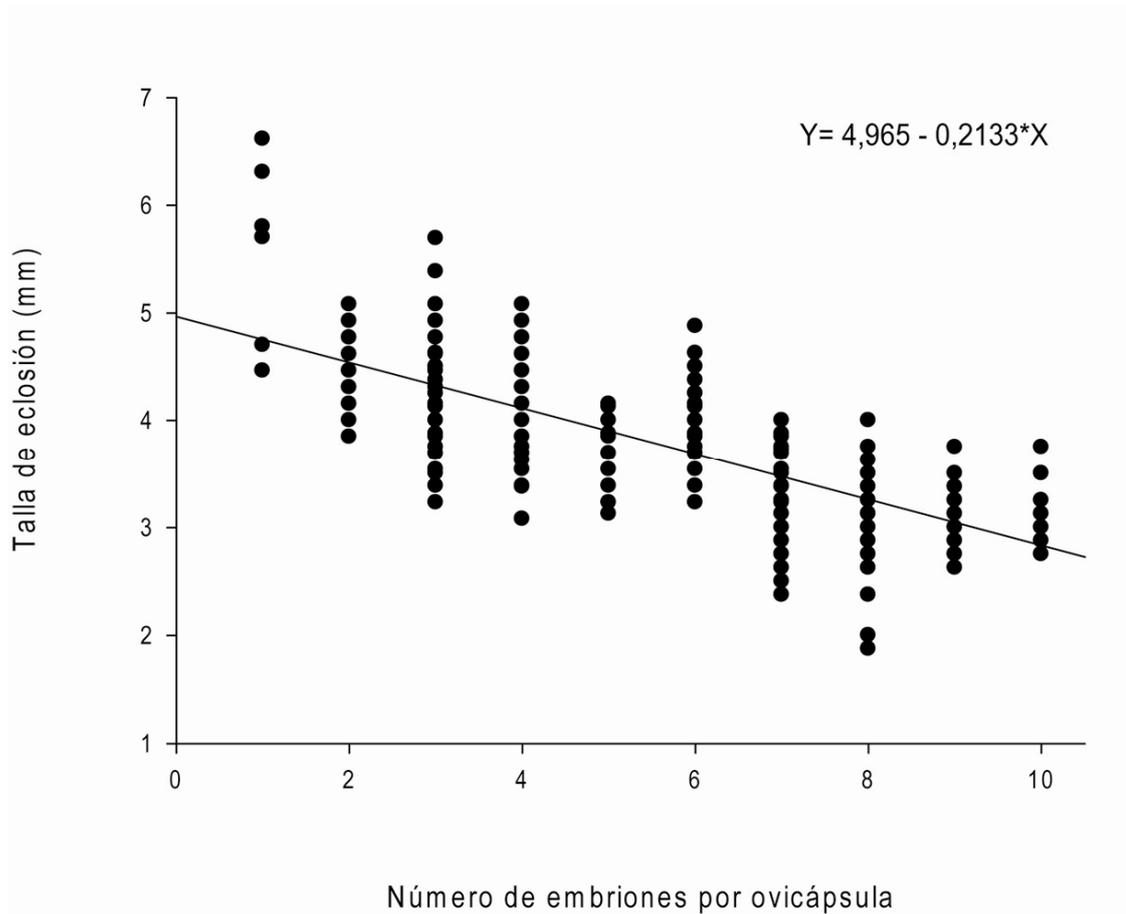


Figura 3.7. Regresión lineal entre la talla media a la eclosión vs. número de embriones que eclosionan por ovicápsula ($p < 0,05$).

3.3.3 Experimento en acuario

Los caracoles colocados en acuarios se movieron, alimentaron y enterraron normalmente, sin embargo no copularon ni colocaron ovicápsulas durante todo el período de estudio (más de un año).

Según lo observado en los acuarios el tiempo de desarrollo de los embriones varió entre 106 y 136 días. Los estadíos 4 y 6, correspondientes a la ingestión de huevos y espiralamiento de la concha (mayor crecimiento) abarcaron la mayor cantidad de días (40-45 y 45-50, respectivamente). Los tiempos detallados por estadío de desarrollo se muestran en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Desarrollo embrionario intracapsular. Los valores representan la talla media (LTE) \pm DS y rango (entre paréntesis). *Tiempo de desarrollo en acuario; Total= 106 - 135 días.

Estadio	Talla media embrionaria (μm)	Tiempo*
0 (Huevo)	227,5 \pm 13,5 (160 - 280) n=2500	0 - 1 d
1 (Clivaje)	299,6 \pm 25,3 (200 - 340) n=53	7 -10 d
2 (Mórula)	264,0 \pm 27,4 (230 - 320) n=38	1 - 3 d
3 ("Veliger" temprana)	511,3 \pm 132,3 (320 - 800) n=30	5 - 9 d
4 ("Pediveliger")	2761,2 \pm 738,5 (1076 - 5.075) n=88	40 - 45 d
5 ("Veliger" tardía)	2878,3 \pm 531,6 (1800 - 4100) n=39	3 - 7 d
6 ("Veliconcha")	3694,1 \pm 341,3 (2922 - 4306) n=54	45 - 50 d
7 (Pre-eclosión)	3492,9 \pm 437,8 (2768 - 4614) n=38	5 - 10 d
8 (Eclosión)	4000,0 \pm 620,0 (2400 - 7000) n=626	0 - 1 d

3.3.4 Comparación con *Buccinanops monilifer*

La proporción de sexos de *B. monilifer* de Mar del Plata no difirió significativamente de 1:1 ($\chi^2= 0,0144$; $df= 1$; $p= 0,904$; $n= 270$), siendo los machos el 56 % de los individuos estudiados. Todos los ejemplares que portaron una puesta fueron identificados como hembras, y sus tallas midieron entre 38,0 y 53,9 mm ($n= 20$) de LT (Media \pm DS). El número de ovicápsulas por hembra osciló entre 7 y 31, con una media de $17,9 \pm 8,0$ ($n= 19$). El número de huevos por ovicápsula varió entre 746 y 2317, con una media de $1409,8 \pm 482,1$ ($n= 19$). El diámetro de los huevos sin segmentar varió entre 220 y 360, con una media de $275,5 \pm 25,5$ ($n=337$) μm .

El patrón de clivaje observado en el desarrollo no mostró diferencias con el de *B. cochlidium* hasta el estadio de mórula. En el estadio equivalente a la larva libre “veliger” ($405,0 \pm 89,5 \mu\text{m}$ de LTE; $n= 12$) el embrión comenzó a ingerir huevos nutritivos uno a uno, rotándolos con el velo ciliado. El estómago nunca contuvo más de un huevo (o fracciones de éstos) a la vez. Como resultado de haber comenzado el clivaje a tiempos diferentes, coexistieron embriones en estadios diferentes de desarrollo dentro de una misma ovicápsula, y de variados tamaños.

Cuando el embrión de mayor tamaño desarrolló una concha y pie, y aún teniendo su velo (estadio “veliconcha”; $567,9 \pm 211,2 \mu\text{m}$ de LTE; $n= 19$), ingirió además a otros embriones de manera que el número de embriones que lo acompañaban disminuyó. En el estadio de pre-eclosión ($2200 \pm 360 \mu\text{m}$ de LTE; $n= 6$) siempre existió un único embrión en cada ovicápsula, sin embriones de ningún otro estadio ni huevos. A la eclosión ($5750 \pm 730 \mu\text{m}$ de LTE; $n= 6$), el embrión alcanza el estadio de juvenil reptante, con la concha completa y coloreada, luego de haber ingerido un promedio de aproximadamente 1400 huevos y varios embriones en estadios de división celular, mórulas, y “veliger” intracapsular temprana y tardía (hasta 8 y 4 respectivamente). Se han encontrado conchas sin espiralizar vacías en ovicápsulas ocupadas por un embrión en estadio de “veliconcha” cuya concha medía lo mismo o más que la encontrada.

La Tabla 3.6 muestra el número y estadios embrionarios registrados junto al embrión de mayor tamaño (para cada estadio de desarrollo) dentro de una ovicápsula.

Tabla 3.6. Estadios embrionarios de *B. monilifer* acompañando al embrión más desarrollado en una ovicápsula. Los valores de talla de cada estadio representan la media \pm DS.

Estadio de desarrollo	LTE (mm)	Otros embriones (estadio)
2 células	$257,1 \pm 32,2$; $n= 14$	Huevos
8 células	$281,4 \pm 25,4$; $n= 14$	Huevos y 2 células
Mórula	$305,2 \pm 26,7$; $n= 24$	Mórula y hasta 8 células
"Veliger" temprana	$405,0 \pm 89,5$; $n= 12$	"Veliger" temprana y hasta 8 células
"Veliconcha"	$567,9 \pm 211,2$; $n= 19$	"Veliconcha", "veliger" y/o hasta 8 células
Pre-eclosión	$2200,0 \pm 360$; $n= 6$	NO
Eclosión	$5750,0 \pm 730$; $n= 6$	NO

En la Figura 3.8 se observan las tallas medias y sus desvíos estándar, para cada estadio de desarrollo de los embriones encontrados.

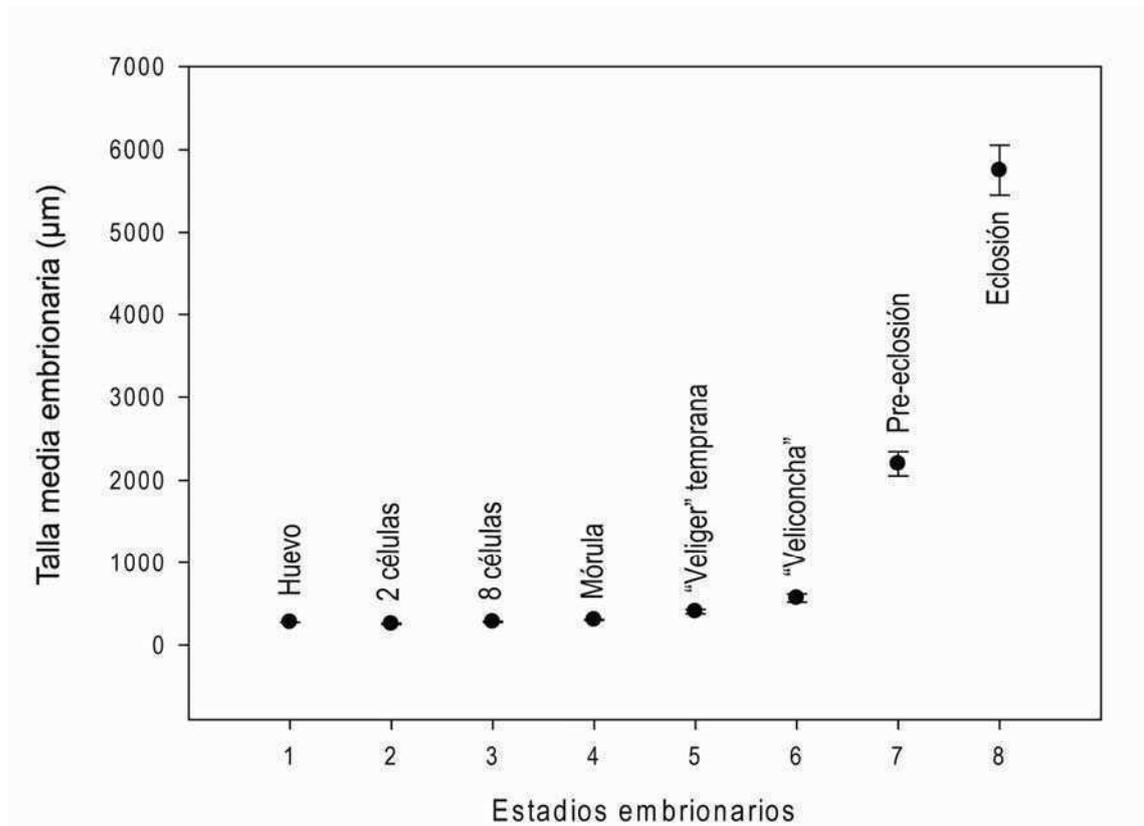


Figura 3.8. LTE medio (μm) por estadio embrionario.

3.4 DISCUSIÓN

3.4.1 Estacionalidad reproductiva

La población de *Buccinanops cochlidium* estudiada de playa Villarino muestra un ciclo reproductivo definido durante el año, incluyendo tres períodos diferentes. Luego de un período de cópula que comienza en marzo y se detiene en octubre, ocurre la oviposición a partir de julio y continúa hasta diciembre. El desarrollo intracapsular culmina en febrero cuando los juveniles eclosionan. La estacionalidad coincide con el ciclo de variación de la temperatura del agua a lo largo del año. La cópula se observa durante otoño e invierno, deteniéndose en octubre cuando se registra el mínimo de temperatura del agua ($10\text{ }^{\circ}\text{C}$); también la oviposición que se había iniciado en julio tiene un máximo en octubre. El desarrollo embrionario ocurre en primavera y verano, en paralelo al aumento de la temperatura del agua (de 10 a $18\text{ }^{\circ}\text{C}$). Tanto la cópula, como la oviposición y eclosión de

juveniles aumenta en frecuencia previo a detenerse. Las hembras de *B. cochlidium* presentan espermatozoides vivos en sus *bursa copulatrix* durante todo el período de cópula. El espermatozoides podría ser preservado vivo durante los meses de cópula, mientras que está ausente el resto del año, es decir que no persiste de una estación reproductiva hasta la próxima (un año después), como podría suceder en el volútid *Odontocymbiola magellanica* (Bigatti *et al.*, 2008).

La cópula no fue descrita previamente en ningún otra especie de *Buccinanops*. La modalidad de cópula descrita aquí se asemeja a la descrita por Brown (1982) para especies de *Bullia*, con la única excepción de las cópulas grupales que no fueron observadas en la población de *B. cochlidium* estudiada.

La talla mínima de oviposición observada fue de 80 mm de LT y representa una medida de primera madurez sexual en hembras. Se observó un único evento de oviposición por época reproductiva en cada individuo; en éste, el pie de una hembra semi-enterrada se contorsiona para acercar el gonoporo a la región del callo de la concha. Esto refuerza la hipótesis previa de que cada hembra adhiere sus ovicápsulas a su propia concha, considerando que los individuos portadores de puestas de *B. cochlidium* siempre fueron hembras. Asimismo los estadios de desarrollo embrionarios y el aspecto general de la puesta fueron similares en las ovicápsulas de cada puesta.

La pared de las ovicápsulas mostró al menos 3 capas laminares al observarse un corte de la membrana bajo microscopio electrónico de barrido. En otros caenogasterópodos se observaron también capas laminares, que en las familias Muricidae y Buccinidae comúnmente poseen 3 a 4 capas (D'Asaro, 1988; Ojeda y Chaparro, 2004). Para corroborarlo es preciso estudiar su ultraestructura bajo el microscopio electrónico de transmisión.

Cada evento de oviposición representa una gran inversión energética reproductiva, con una fecundidad promedio por hembra de 450.000 huevos (diámetro promedio= 227 μ m) o un equivalente de aproximadamente 800 juveniles eclosionantes sin estadios larvales libres. Estos resultados son semejantes a los 490.000 huevos (240 μ m de diámetro aproximadamente) promedio puestos por cada hembra de *Buccinum isaotakii* de Japón, aunque el tiempo de desarrollo en este caso es de 6 a 7 meses, y son 8000 los embriones que eclosionan como reptantes y una talla promedio de 2,5 mm (Ilano *et al.*, 2004). Durante el presente estudio no se observaron indicios de que una hembra pueda volver a oviponer en una misma estación reproductiva; ninguna hembra con ovicápsulas tardías ni residuos de

ellas depositó una nueva cohorte. Esto deberá ser corroborado con experimentos de exclusión de hembras en jaulas durante todo un año.

3.4.2 Desarrollo embrionario

Los tiempos de desarrollo que corresponden a cada estadio son heterogéneos, como resultado de su definición por medio de diferencias morfológicas. Más aún, como los embriones dentro de una misma ovicápsula no comienzan a desarrollarse exactamente de manera simultánea, pueden coexistir varios estadios (consecutivos) en un momento dado. A pesar de ello, los embriones alcanzan la eclosión simultáneamente, pero con tallas variables de la concha (dependiente de la cantidad de huevos nutritivos ingeridos). La regresión lineal entre el número de embriones por ovicápsulas y la talla media de eclosión (LTE) resulta significativa, aunque explica solamente el 51% de la varianza de la muestra, sugiriendo que hay además otras variables que podrían explicar esta relación (por ej.: el número total de huevos nutritivos depositados en cada ovicápsula).

El número de ovicápsulas adherido a la concha no se relaciona con la talla materna (LT) ni a su peso (PT). Esto podría explicarse porque esos parámetros se vinculan a una inversión energética total de la hembra (por ej.: una combinación del número de ovicápsulas y del número de huevos en cada una de ellas) (Chaparro *et al.*, 1999; Ilano *et al.*, 2004). Otro factor a considerar es que el esfuerzo reproductivo puede variar a través de la vida de las hembras (Clutton-Brock, 1991); en consecuencia, hembras de una misma clase de talla o peso, pero con edades diferentes, pueden tener una inversión reproductiva diferente. Futuros estudios teniendo en cuenta el contenido energético de cada órgano a lo largo de las distintas estaciones del año ayudarán a conocer con más detalle lo que ocurre en el caso de *B. cochlidium*.

El tiempo de desarrollo intracapsular registrado en este estudio es menor que el de especies de *Buccinum undatum* y *Buccinum cyaneum* de aguas templado-frías, que según lo observado por Miloslavich (1995) puede llevar hasta 9 meses; en ambos casos con desarrollo embrionario intracapsular completo. Otras especies tropicales con utilización de huevos nutritivos requieren un tiempo menor de desarrollo, como en *Fasciolaria tulipa hollisteri*, (3 meses) o menor aún en *Fusinus closter* (7 semanas) pero eclosionando como una veliconcha reptante (Miloslavich, 1995).

La proporción de 1 embrión a 570 huevos nutritivos (de 227 micrones) registrada aquí es mayor a la observada para *Buccinum*, de 92 huevos en *B. undatum* y 189 huevos en *B. cyaneum* (según la especie), mientras que *F. tulipa hollisteri* y *F. closter* consumen 446

y 17 huevos por embrión, respectivamente. Los juveniles de *B. cochlidium* eclosionan con una talla promedio de 4 mm, mientras que en *B. undatum* y *B. cyaneum* es de 2,5 y 2,6 mm. *F. tulipa holllisteri* muestra mayores semejanzas con *B. cochlidium* con una talla de eclosión de 4,4 mm. En *F. closter* las diferencias son mayores con apenas 1,7 mm de talla a la eclosión, conformando una modalidad muy distinta, además de la diferencia de hábitats. Estos resultados sugieren que la modalidad de desarrollo es explicada no sólo filogenéticamente sino por diferencias de hábitat (es decir, ambiente tropical vs. templado). Según Cernohorsky (1984), debido a ésto, el tipo de desarrollo carece de utilidad taxonómica en el nivel supra-específico.

En los trabajos previos de Penchaszadeh (1971a; b, 1973) en *B. cochlidium*, el estadio intracapsular “veliger” repleto de huevos fue interpretado como un “paquete de huevos” en una membrana, basándose en el trabajo de Ansell y Trevallion (1970) y autores previos (Crichton, 1943; Barnard, 1958). Esos “paquetes” son en realidad el resultado de la competencia entre embriones por una cantidad limitada de huevos (Fioroni, 1966). Una discusión detallada acerca de las ventajas y desventajas de ingerir cantidades distintas de un promedio óptimo de huevos nutritivos fue desarrollada por Spight (1976). Este autor plantea que cuando el recurso excede lo necesario por el número de embriones todos comerán al menos la cantidad promedio óptima y rápidamente los restantes. Cuando el recurso huevos nutritivos es el factor limitante, la competencia entre embriones afectará su talla de eclosión; y ser el primero en desarrollarse y comenzar la ingesta es claramente una ventaja. Sin embargo, el mismo autor encontró que las diferencias de tallas de eclosión podrían deberse menos a la competencia que a una distribución desigual de huevos entre ovicápsulas. La variedad de tallas de eclosión por ovicápsulas y, por otro lado, el aumento de la talla de eclosión cuando el número de eclosionantes por ovicápsula es menor, son evidencias de la competencia por el recurso huevo nutritivo (Pechenik, 1986; Chaparro y Paschke, 1990; Chaparro *et al.*, 1999); lo mismo ocurriría en *B. cochlidium*. Resta desarrollar a futuro un estudio sobre la distribución de huevos nutritivos y embriones en las ovicápsulas. El estadio “veliger” intracapsular de *B. cochlidium* ingiere y almacena un promedio de 570 huevos nutritivos enteros. Este mecanismo puede ser el factor que estimule la competencia entre embriones hasta que no queden más huevos disponibles, y su consecuente desarrollo utilizando la energía de los huevos consumidos. Otras fuentes energéticas, como el líquido intracapsular, deberían ser consideradas en futuros estudios.

Un género emparentado a *Buccinanops*, *Bullia* (Nassariidae) incluye especies como *Bullia digitalis* cuyo modo de ingestión de huevos nutritivos (Brown, 1971) recuerda al de

B. cochlidium; mientras que en otros, como en *B. melanoides* y *B. tenuis*, existen evidencias que sugieren la posibilidad de canibalismo embrionario (Ansell y Trevallion, 1970; Brown, 1985). En el caso de *B. cochlidium* no se observó ninguna evidencia de canibalismo intracapsular.

3.4.3 Experimento en acuario

Los embriones de *B. cochlidium* completan su desarrollo en acuarios acondicionados en un promedio de 121 días (106 - 136). Este tiempo puede estar sobre-estimado debido a que la temperatura del agua en los mismos equivale a la del período de oviposición pero no aumenta a través del tiempo, como se observa en la naturaleza. Estudios a campo podrán corroborar estos resultados experimentales, sin embargo, este tiempo de aproximadamente cuatro meses coincide con el tiempo transcurrido en la naturaleza entre los picos de frecuencia de oviposición (octubre) y eclosión (febrero), por lo que se puede tomar como patrón para la especie.

3.4.4 Comparación con *Buccinanops monilifer*

Todos los individuos estudiados portando ovicápsulas fueron hembras; este hecho coincide con las observaciones realizadas en *B. cochlidium* de Patagonia. Ésto sugiere que probablemente cada hembra deposita sus ovicápsulas adhiriéndolas a su propia concha, y que sea una característica común a todo el género

Los embriones de *B. monilifer* en estadio “veliger” intracapsular ingerieron los huevos nutritivos uno a uno, sin acumularlos en el tubo digestivo, mientras continuaron desarrollándose intracapsularmente como “veliger” temprana, “veliger” tardía, pre-eclosionantes y posterior eclosión. La modalidad de ingesta coincide con observaciones anteriores (Penchaszadeh, 1971) donde los embriones rotarían los huevos e ingerirían sus fracciones o enteros como en *Buccinum undatum* (Fioroni, 1967). También se observó por transparencia a los embriones con un huevo, y nunca más de uno, o fracción de él en su interior. Esto contrasta con lo observado en *B. cochlidium* cuyos embriones ingieren todos los huevos que pueden durante el estadio de “veliger” intracapsular, formando un gran saco redondeado de hasta 2 mm de diámetro lleno de huevos. Luego continúan su desarrollo hasta un juvenil reptante con concha.

El género *Bullia*, ampliamente estudiado por Brown (1982), incluye tipos reproductivos con presencia de adelfofagia (alimentación intracapsular por huevos nutritivos) con desarrollo completo como patrón de desarrollo principal, pero también otros

con canibalismo intracapsular, así como desarrollo planctotrófico (Ansell y Trevaillon, 1970). El canibalismo de un embrión, probablemente el primero en desarrollar una boca y un velo, sobre otros embriones desarrollándose en la misma ovicápsula, puede representar una fuente nutricional complementaria a la adelfofagia.

En *Buccinanops monilifer*, cuyo individuo adulto de mayor tamaño registrado midió 59 mm de LT, la talla promedio de la concha a la eclosión fue de $5,8 \pm 0,7$ mm (n= 6). En *B. cochlidium* de Patagonia, cuyo individuo adulto de mayor tamaño midió 108 mm de LT, con un número variable de embriones eclosionando por ovicápsula, este parámetro fue $4,0 \pm 0,6$ mm (n= 626), aunque con una tendencia a aumentar cuando el número de embriones por ovicápsula disminuía. La talla promedio (LT) de la concha a la eclosión en ovicápsulas con un único individuo desarrollado aumentó hasta casi 6 mm (n= 7). La eclosión de un único embrión por ovicápsula le permite a éste utilizar la totalidad de la energía depositada en su ovicápsula (como huevos nutritivos, embriones, y otros no considerados en este estudio). Esta modalidad representa una ventaja para el embrión que eclosiona, y es la regla en todas las otras especies estudiadas de *Buccinanops*, incluyendo a *B. monilifer*, *B. duartei*, y *B. globulosus* (Penchaszadeh, 1971a, b).

La adelfofagia representa una modalidad de nutrición embrionaria que lleva a los embriones de algunas especies a eclosionar como grandes juveniles reptantes. El canibalismo intracapsular de otros embriones puede ser una manera de obtener mayores recursos nutricionales y a la vez una manera de evitar la desventaja de compartir el recurso (huevos) o los efectos de la competencia con otros embriones (y eclosionando con tallas que difieren de un óptimo teórico) como fue expuesto por Spight (1976) y considerado también por otros autores (Pechenik, 1986; Miloslavich y Penchaszadeh, 2001). Esta modalidad de nutrición intracapsular por adelfofagia y además canibalismo de embriones menos desarrollados podría ocurrir en las otras especies de *Buccinanops* estudiadas en las que la eclosión de un único embrión por ovicápsula es la regla, y que no han sido reportadas como especies con canibalismo intracapsular.

CAPÍTULO II

4 Ojos embrionarios

4.1 INTRODUCCIÓN

Los moluscos son un phylum que exhibe una gran diversidad de tipos oculares con un amplio rango de complejidad estructural, y poseen un creciente interés en vista al modelado de la evolución del desarrollo de los ojos (Tomarev *et al.*, 1997; Arendt, 2003; Platcheski *et al.*, 2005). En los caenogasterópodos un par de ojos se ubica usualmente en la cara externa de los tentáculos cefálicos, embebidos en los mismos o en un pequeño bulbo en su base. Originalmente, un pedúnculo separado contenía al ojo en la zona de la cabeza inmediatamente posterior al tentáculo cefálico (por ej.: *Haliothis* Linnaeus, 1758) o parcialmente separado como en los Trochacea (Hyman, 1967; Fretter y Graham, 1994).

El interés en el desarrollo de los ojos de gasterópodos incluye tópicos como el desarrollo independiente del ojo en comparación con otras clases de moluscos y la regeneración de los mismos, entre otros (Gibson, 1984; Bever y Borgens, 2005). Aún más interesante resulta la pérdida de ojos en linajes portadores de ojos. La pérdida de ojos ha sido reportada muchas veces en los gasterópodos. Entre ellos, géneros de algunas familias no relacionadas filogenéticamente con representantes ciegos (sin ojos) como los archeogasterópodos *Pisulina* Neville, 1869 (Neritiliidae) (Kano y Kase, 2002), los neogasterópodos *Buccinanops* d'Orbigny, 1841 y *Bullia* Gray en Griffith y Pidgeon, 1834 (Nassariidae) (d'Orbigny, 1841; da Silva y Brown, 1985), los opistobranquios *Retusa* Brown, 1827 (Retusidae) y *Cylichna* Lovén, 1846 (Scaphandridae) (Mikkelsen, 2002), y pulmonados como *Cecilioides* de Férussac, 1814 (Ferussaciidae) (Heller *et al.*, 1991). No se acuerda una explicación única y consistente acerca de la reducción o pérdida de ojos en estos grupos, aunque generalmente se asocia con hábitos de enterramiento o de vida en cuevas y abismos oceánicos donde la luz no llega (Hyman, 1967; Fretter y Graham, 1994; Strickler *et al.*, 2001; Kano y Kase, 2002). Estudios comparativos acerca de especies o linajes sin ojos pueden ayudar a la comprensión de estos procesos de reducción y/o pérdida en la naturaleza, y complementar el conocimiento sobre el desarrollo de los ojos.

En el marco del estudio del desarrollo embriológico intracapsular de *Buccinanops cochlidium*, se observaron e identificaron pequeñas manchas oculares oscuras en la base de los tentáculos cefálicos de sus embriones. Estas manchas fueron identificadas como ojos por su localización, estructura y aspecto pigmentario (Fretter y Graham, 1994).

El presente capítulo es el primer estudio sobre la estructura y localización de los ojos embrionarios de una especie cuyos adultos son considerados ciegos (sin ojos). Se hace énfasis en el destino ontogenético de dichos órganos, con el fin de encontrar un modelo para su desaparición, en diversos linajes oculados de caenogasterópodos.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Caracterización de los ojos

Las muestras se obtuvieron según lo descrito para el estudio del desarrollo embriológico (Capítulo I). Se colectaron hembras portando ovicápsulas en distintos estadios de desarrollo, así como juveniles y adultos de varias clases de talla. Los animales se mantuvieron vivos en agua marina hasta llegar al laboratorio, y se colocaron en los acuarios acondicionados hasta su procesamiento. Todos los individuos utilizados en este estudio fueron identificados como embriones intracapsulares (según los estadios previamente utilizados en esta tesis), juveniles o adultos.

Utilizando una lupa se registró la presencia o ausencia de ojos para cada estadio del desarrollo embrionario estudiado, así como en juveniles y adultos. Todos los individuos estudiados fueron medidos (LT). Cada vez que se encontraron ojos, se registró su ubicación y se disecaron los tentáculos cefálicos conteniendo los mismos. Si no se observaron ojos, todo el tentáculo fue disecado.

4.2.2 Estructura

En todos los casos se pre-fijó el material en glutaraldehído al 2,5% en buffer cacodilato por dos horas, se lavó en buffer cacodilato, y se posfijó en una solución de tetróxido de Osmio 2% durante 1 hora, con posterior lavado en buffer cacodilato. Las piezas fijadas se deshidrataron en una serie de alcohol (etanol en concentraciones crecientes) y se incluyeron en resina epoxy Spurr. Se realizaron cortes semifinos seriados de 1µm de espesor en las piezas desde la base del tentáculo. Los preparados fueron teñidos con Azul de Metileno.

Cuando fue posible, las secciones ultrafinas conteniendo el ojo fueron montadas para microscopía electrónica de transmisión (MET), en grillas de cobre y teñidas con uranil-acetato 2% (Reynolds, 1963).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Caracterización de los ojos

Los ojos fueron reconocidas originalmente en todos embriones en estadio intracapsular "veliger" tardío ($2,9 \pm 0,5$ mm de LT de concha; $n = 39$) cuando el tentáculo cefálico esta completamente desarrollado, y el pie y la concha han comenzado a desarrollarse. Los ojos también fueron observados en estadios posteriores: pre-eclosión ($3,5 \pm 0,44$ mm; $n = 38$) y eclosión ($4,0 \pm 0,6$ mm de LT; $n = 626$; Fig. 4.1. B). En todos los casos se situaron en la región basal de los tentáculos cefálicos (Figs. 4.1. B-C).

Los ojos embrionarios midieron entre 35 y 40 μm ($n = 8$) de diámetro máximo, en embriones de entre 2 y 5 mm de LT.

Los ojos oscuras también se reconocieron macroscópicamente en un único individuo juvenil de 15 mm (LT), pero no se pudo encontrar una estructura ocular microscópicamente en ese individuo. Los tentáculos de un adulto (Fig. 4.1. A) que midió 60 mm de TL, también fueron estudiados microscópicamente, sin encontrar evidencias de ojos.

4.3.2 Estructura

En sección transversal, la estructura del ojo muestra una membrana basal, una retina y una lente (Figs. 4.1. D-E). Dos tipos celulares (células fotorreceptoras y de soporte) están presentes conformando la retina. Uno de estos tipos celulares muestra cromatina condensada (eucromatina) que se observa como núcleos oscuros y corresponde a las células fotorreceptoras. Las células de soporte, que están presentes en un número mayor que las anteriores, poseen cromatina menos condensada (heterocromatina; Fig. 4.1. F).

Página siguiente: Figura 4.1. *Buccinanops cochlidium*. A- Ejemplar adulto de playa Villarino; B- Ojos (o) en la base de los tentáculos (t) de un embrión pre-eclosión; C- Corte transversal (microscopía óptica) de la región cefálica de un embrión en estadio “veliger” tardío, el ojo del tentáculo izquierdo se observa pigmentado; D- Corte transversal (microscopía óptica) en la base del tentáculo; E- Detalle del ojo rodeado por tejido tentacular (conectivo (tc), muscular (tm) y epidérmico (te), se observa la lente (le), el humor (hu) y el nervio óptico (on); F- Detalle del ojo en la base del tentáculo de un embrión en estadio pre-eclosión, con una única lente con ambos tipos celulares. Escalas: (A) = 2 cm, (B) = 1 mm, (C) = 200 μ m, (D-F) = 20 μ m. Otras abreviaturas: células fotorreceptoras (cf); pigmento (pi); células de soporte (cs).

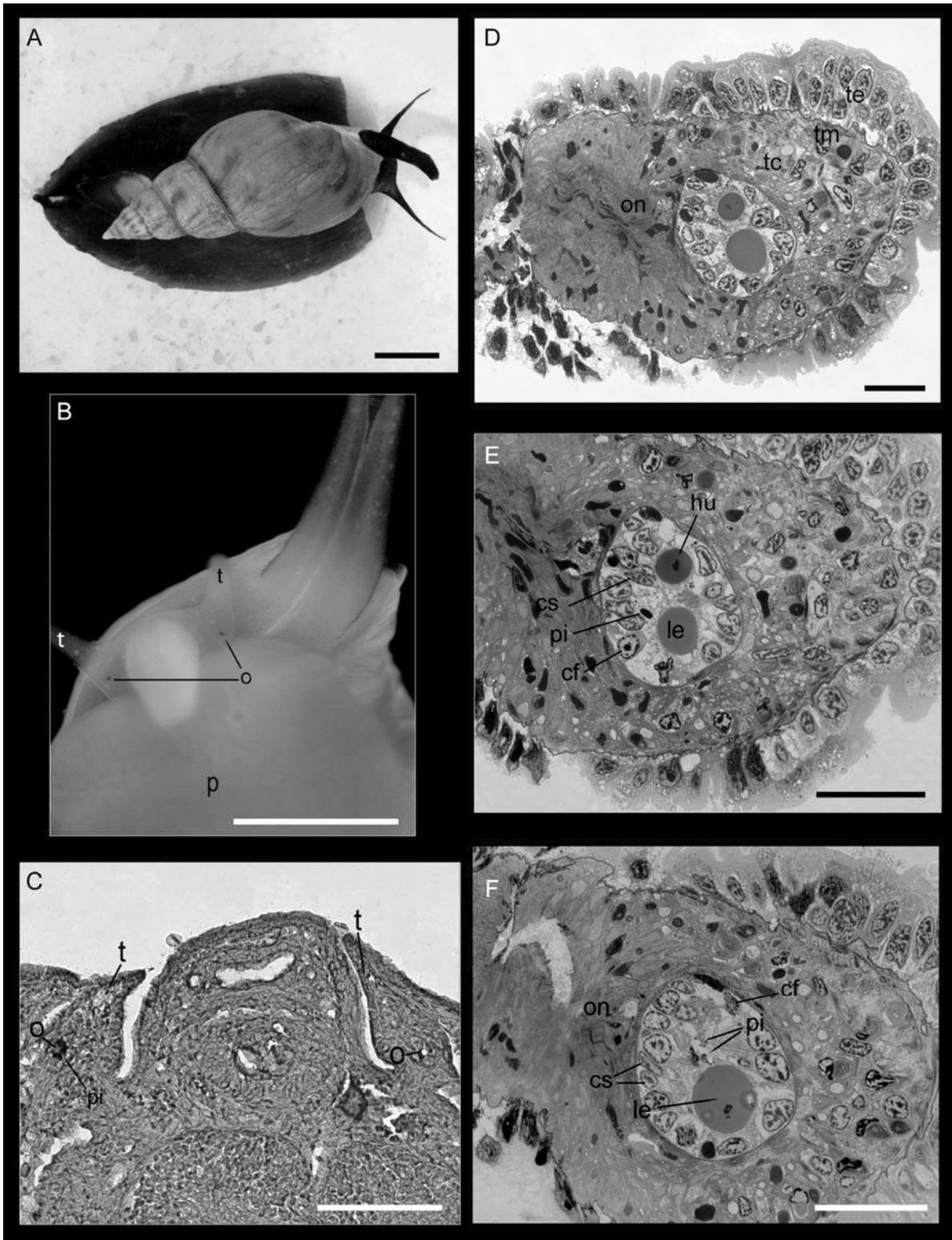


Figura 4.1.

En ambos tipos celulares presentes existe pigmentación en diferentes densidades. En la Figura 4.2 pueden observarse ambos tipos nucleares según se observan al microscopio electrónico de trasmisión.

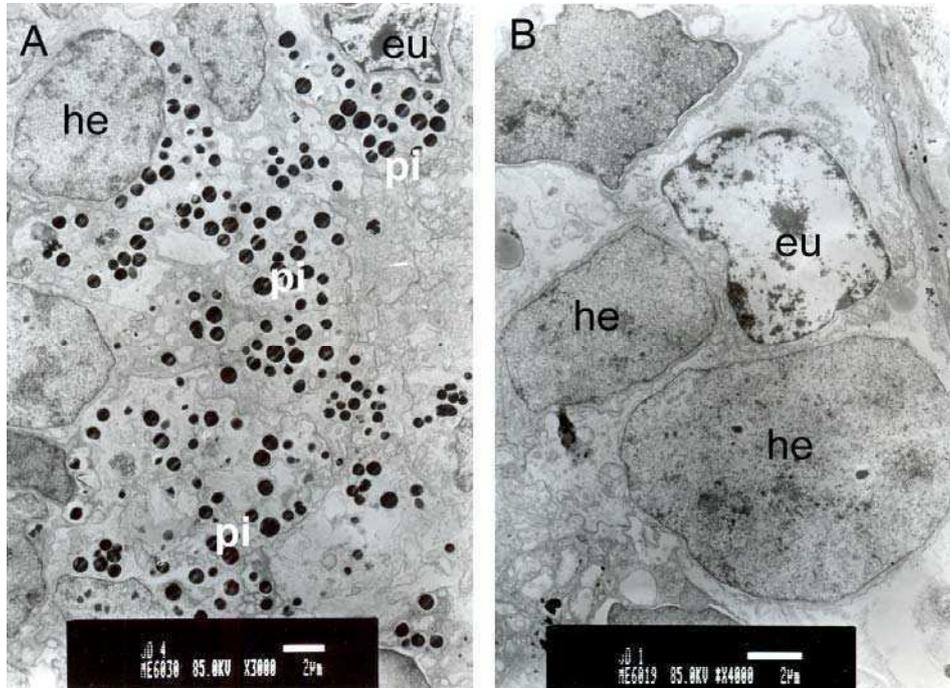


Figura 4.2. Imágenes del ojo en el MET. A- Retina; se observan los pigmentos fotosensibles (pi) y los núcleos celulares adyacentes; B- Detalle de los núcleos donde se observan ambos tipos de cromatina: eucromatina (eu); heterocromatina (he). Escala: 2 μ m.

La lente aparece algunas veces como una gran estructura redondeada, mientras que en otros casos se observa además una estructura de menor tamaño y aspecto similar aunque más oscura, lo que se asemeja a un humor (Fig. 4.1. E). No se pudo identificar un área de entrada de luz al ojo, en ninguna sección de los tentáculos, ya que cada ojo se encontró rodeado consistentemente por tejido de los tentáculos (tejido epidérmico, muscular y conectivo; Fig. 4.1. D).

4.4 DISCUSIÓN

Se reconoció por primera vez la presencia de ojos en embriones tardíos intracapsulares en *Buccinanops cochlidium*, la cual fue confirmada histológicamente. Aunque existen algunas otras especies de caracoles sin ojos en los adultos (por ej.: en Argentina el género *Olivancillaria* d'Orbigny, 1841 (Olividae) y otros grupos citados anteriormente) en los que probablemente existan ojos embrionarios, este es el primer estudio en profundidad que se realiza acerca de la estructura de ojos embrionarios de una especie ciega de gasterópodos. La pérdida o reducción de ojos se asocia usualmente a ambientes pobremente iluminados (Hyman, 1967; Fretter y Graham, 1994). Sin embargo en este caso, *Buccinanops cochlidium* habita aguas someras y fondos bien iluminados, y los individuos a menudo están enterrados unos pocos cm en el sustrato arenoso. Cuando los animales se encuentran alimentándose de manera solitaria o en grupos se los observa en la superficie.

Al menos dos tipos celulares parecen estar presentes en la retina de *Buccinanops cochlidium*, y que se asientan sobre una membrana basal. Ambos tipos poseen pigmentación, pero en diferentes densidades. Una lente, un humor y un nervio óptico completan la estructura del órgano fotorreceptor.

Aunque se identificaron estas estructuras en los embriones dentro de las ovcápsulas como ojos, su presencia no está confirmada en juveniles (post-eclosión). En un individuo juvenil de 15 mm (post-eclosión) se observaron sendas manchas oculares, pero no fue posible confirmar histológicamente la presencia de ojos en estadios post-embrionarios. El estudio de individuos en este rango de talla puede ser importante para poder determinar si el ojo es conservado intacto o modificado, embebido profundamente en el tejido del tentáculo, o si degenera cuando el animal crece. En caracoles que miden más de 20 mm de LT los ojos no son visibles macroscópicamente, lo cual apoya fuertemente la hipótesis de que los ojos degeneran en los adultos. ¿Como sucedería esta degeneración? Kano y Kase (2002) discutieron algunas posibles explicaciones como una reducción de tamaño, pérdida de pigmentación en la retina, o hundimiento de la estructura profundamente bajo la piel.

Utilizando técnicas de MET para completar la información de la ultraestructura de los ojos embrionarios, no se ha podido confirmar si los tipos de células fotorreceptoras son rhabdoméricas o ciliares (Arendt, 2003; Plachetzki *et al.*, 2005). Para corroborarlo es necesario repetir ensayos tanto en embriones como en individuos

juveniles y adultos en los que pudieran estar presentes los ojos. Si se encontraran ojos en juveniles o adultos, una comparación de las ultraestructuras con aquellas de los embriones sería interesante. De esta manera sería posible dilucidar si su estructura permanece igual o si es modificada en cuanto a los números y tipos celulares de la retina, como sucede en otras especies de caracoles (Blumer, 1996, 1998). No se encontró bibliografía sobre casos similares de ojos embrionarios en especies donde los adultos carecen de ellos. Sería interesante realizar un trabajo comparativo con otras especies de caracoles ciegos de grupos emparentados, como son los buccinidos *Buccinum* sp. o los nasaridos *Bullia* sp. (Brown, 1982; Cernohorsky, 1984; Allmon, 1990) con y sin ojos, respectivamente.

Capítulo III

5 Ciclo gametogénico y madurez reproductiva

5.1 INTRODUCCIÓN

Buccinanops cochlidium es la especie de mayor tamaño en el género, alcanzando los adultos cerca de 110 mm de largo y más de 100 g en peso húmedo de las partes blandas, y es considerada la especie de mayor tamaño de la familia Nassariidae (Cernohorsky, 1984; Abbott y Dance, 1986; Allmon, 1990). Su agradable sabor y la suavidad de su carne han llevado a esta especie a ser blanco de captura ocasional como pesca artesanal de los buzos marisqueros de la Patagonia, colectado mediante buceo autónomo desde embarcaciones pequeñas, principalmente para consumo local. Aunque su pesca no está declarada ni se realiza a escala comercial, representa una potencial alternativa a las crecientes pesquerías de volutidos (Cledón *et al.*, 2005a; Giménez *et al.*, 2005; Bigatti y Ciocco, 2008). La especie del mismo género *B. globulosus* es actualmente capturada comercialmente en el golfo San Matías (Narvarte, 2006) con capturas de hasta 9200 kg anuales, y vendido en pescaderías de la zona y de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Todo ello hace a *B. cochlidium* un potencial recurso pesquero en la zona, como alternativa a las pesquerías de caracoles actualmente en desarrollo en el país, que responden a una creciente demanda del mercado internacional.

Con vista a una reglamentación de su captura de manera sustentable es importante conocer su ciclo reproductivo y otros parámetros biológicos poblacionales que describen el estado reproductivo de la población, como las tallas de primera madurez sexual y senilidad reproductiva, fecundidad, parasitismo, etc. (Bigatti y Ciocco, 2008). Esta información sirve de base biológica en conjunto con datos de rendimiento y captura por unidad de esfuerzo (CPUE), entre otros, al momento de definir reglas para un manejo sustentable del recurso (Leiva y Castilla, 2002).

El aparato reproductor masculino de *Buccinanops cochlidium* es similar al de otros neogasterópodos (Fretter y Graham, 1994). Está conformado por un único testículo ubicado en la región distal de la masa visceral del individuo (ápice), conectado a un ducto

espermático que se expande en una vesícula seminal receptora del esperma maduro, que se continúa con el vaso deferente. El mismo es un conducto que une esta estructura a un pene conspicuo ubicado posteriormente al tentáculo cefálico derecho.

El aparato reproductor de las hembras está formado por un único ovario, también ubicado en la región del ápice de la concha. Luego de un corto ducto, las glándulas reproductivas accesorias (glándula del albumen y de la cápsula) se continúan en un gonoducto hasta la vagina. A través de ésta se produce la cópula y la oviposición de las ovicápsulas. Como se enunció en el capítulo I, las hembras de *Buccinanops cochlidium* desarrollan en promedio una fecundidad de 450.000 huevos por puesta, que originan cerca de 800 juveniles que eclosionan sin fase larval de vida libre.

La estacionalidad reproductiva incluye períodos definidos de cópula, oviposición y de cuidado de las puestas. Estos procesos visibles por buceo tienen un correlato en procesos internos como los ciclos gametogénicos (espermatogénesis en machos (Voltzov, 1994) y oogénesis en hembras (Jong-Brink *et al.*, 1983)). El estudio microscópico de estos ciclos mediante técnicas histológicas permite conocer en detalle los mecanismos que ocurren dentro de la gónada asociados a la estacionalidad reproductiva. Otra información valiosa que puede brindar es la talla mínima de primera madurez reproductiva, es decir la talla en que los juveniles alcanzan la madurez gonádica y comienzan a reproducirse, y la existencia o no de reabsorción de residuos gaméticos.

Asociado a los estudios reproductivos aparece el fenómeno de imposex, tanto por su evidencia anatómica como por sus efectos sobre la capacidad reproductiva. Se define como imposex a la impostación de caracteres masculinos en hembras de gasterópodos (Blaber, 1970). La misma se asocia causalmente a la exposición a compuestos organo-estañosos como el tribultiestaño (TBT). Se manifiesta como una neoformación del pene o vaso deferente en hembras de especies de caenogasterópodos (Gibbs, 1994). Este fenómeno se demostró por primera vez en el país en moluscos gasterópodos de la costa atlántica argentina (Penchaszadeh *et al.*, 2001). El TBT forma parte como compuesto activo de las pinturas anti-incrustantes que son aplicadas en embarcaciones con el fin de evitar el asentamiento y crecimiento de organismos epibiontes. El grado de imposex se incrementa con la proximidad a los puertos y se correlaciona con las concentraciones de TBT en aguas y sedimentos (Bryan *et al.*, 1987; de Mora *et al.*, 1989). En casos extremos

el gonoporo de las hembras queda obstruido y la capacidad reproductiva de la población se ve disminuida (Barreiro *et al.*, 2001).

En este capítulo se estudia la estructura y madurez gonadal, y el ciclo reproductivo de *Buccinanops cochlidium*. Asimismo se considera especialmente el estudio y biomonitoreo del fenómeno de imposex en esta especie.

5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1 Muestreo, procesamiento y estacionalidad

Durante un período de 2 años, entre diciembre de 2004 y noviembre de 2006, se colectaron mensualmente 15 a 20 individuos mediante buceo autónomo a una profundidad entre 5 y 15 m. Se registró en el campo la ocurrencia de cópula, oviposición o cuidado y estadios de desarrollo en las puestas. La temperatura del agua registrada durante todo el período se utilizó como parámetro de variación físico-ambiental, que se relacionó con las variaciones biológicas.

Se midió el largo total de la concha (LT) y se pesaron las partes blandas del caracol (PT). Luego de remover la concha se sexó cada ejemplar como fue explicado previamente, con el fin de determinar la proporción de sexos. Luego se procedió a disecar la gónada. Se registró en cada caso el color de la misma. Finalmente se procedió a su fijación y posteriormente se realizaron técnicas histológicas de rutina (según lo explicado en la metodología general).

5.2.2 Estructura gonadal

Se caracterizaron los estadios de desarrollo gonádico para ambos sexos, mediante la observación de los preparados histológicos. Además se realizaron preparados de machos y hembras, tanto de gónadas repletas como evacuadas, para ser observados en el microscopio electrónico de barrido (MEB) según lo explicado en la metodología general.

5.2.3 *Ciclo gametogénico*

Se estudió el desarrollo del ciclo gametogénico (estadios gametogénicos presentes en cada individuo) en ambos sexos a través de un ciclo anual, en los dos años consecutivos muestreados (2004-2006). Para el estudio del ciclo gametogénico se consideraron los siguientes estadios: 1- Gametas en proliferación (gonias), 2- Gametas en crecimiento, 3- Madurez o pre-evacuación, 4- Evacuación de gametas, 5- Reabsorción de residuos gaméticos.

En todas las hembras maduras y no parasitadas, además se midió al microscopio óptico el diámetro máximo de 50 oocitos (en secciones que incluyeran el núcleo y nucleolo visible) por individuo, mediante el uso de un micrómetro ocular. Se midió el diámetro máximo y mínimo en cada caso y se utilizó su media aritmética como parámetro de cada oocito. El período anual considerado para la medición de la población oocitaria incluyó desde diciembre de 2004 hasta noviembre de 2005.

5.2.4 *Talla de primera madurez sexual*

Para obtener la talla de primera madurez reproductiva se estudió la talla mínima de madurez gonádica (hembras y machos) según la presencia de oocitos vitelogénicos y espermatozoides maduros en el lumen de los túbulos de hembras y machos respectivamente. Para ello se calculó la talla en la que el 50 % de los individuos estaban maduros mediante un análisis de regresión logística. Por otro lado se estudió la relación PT-LT con el fin de encontrar un cambio que se pueda asociar a la madurez de los individuos. En los machos el largo del pene (excluyendo los individuos parasitados) se utilizó como otro parámetro de madurez.

Debido a que en los individuos de mayor tamaño se observó una reducción de órganos reproductivos y glándulas accesorias, se registró la talla mínima en que esto ocurría y se relacionó con aspectos que evidenciaran reabsorción de tejido gonádico en los preparados histológicos.

5.2.5 *Imposex*

Los individuos fueron sexados anatómicamente; luego se confirmó mediante identificación de las gametas en los cortes histológicos de sus gónadas. Se midieron

longitudes de penes y presencia de vaso deferente en machos y hembras. Se determinó la presencia y porcentaje de imposex en individuos de las distintas poblaciones de *B. cochlidium*. Para ello se calculó el índice relativo del largo del pene (RPLI) según Bryan *et al.* (1986).

5.2.6 Estadística

Se evaluaron diferencias en la proporción de sexos respecto de 1:1, mediante una prueba de Chi-cuadrado (χ^2). Se probó la hipótesis de ausencia de diferencia entre tallas de machos y hembras mediante una prueba *t* de Student.

Las variaciones estacionales de las tallas oocitarias fueron probadas con un ANOVA de 2 factores; el primero y fijo fueron las estaciones (verano: enero-marzo, otoño: abril-junio, invierno: julio-septiembre, primavera: octubre-diciembre) y el aleatorio y anidado en las estaciones, los meses. En algunos meses hubo un dato menos por lo que se reemplazó por la media de los datos existentes y restando un grado de libertad al residuo de la prueba en cada caso. Los contrastes *a posteriori* utilizados fueron los de Student-Newman-Keuls.

La talla de primera madurez se obtuvo mediante un análisis de regresión logística, ajustando los datos de tallas y madurez (inmaduro= 0; maduro= 1).

En cada caso, se comprobó la homogeneidad de varianzas de las muestras utilizadas mediante una prueba de Cochran.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Muestreo, procesamiento y estacionalidad

La población estudiada de *B. cochlidium* presenta una proporción de sexos que no difiere significativamente de 1:1 ($gl=1$; $\chi^2= 5,0$; $P>0,5$) durante el período muestreado. El largo total de las conchas (LT) resultó significativamente mayor en hembras que en machos ($gl=318$; $t= 7,8$; $p<0,0001$; $n=320$) (Fig. 5.1).

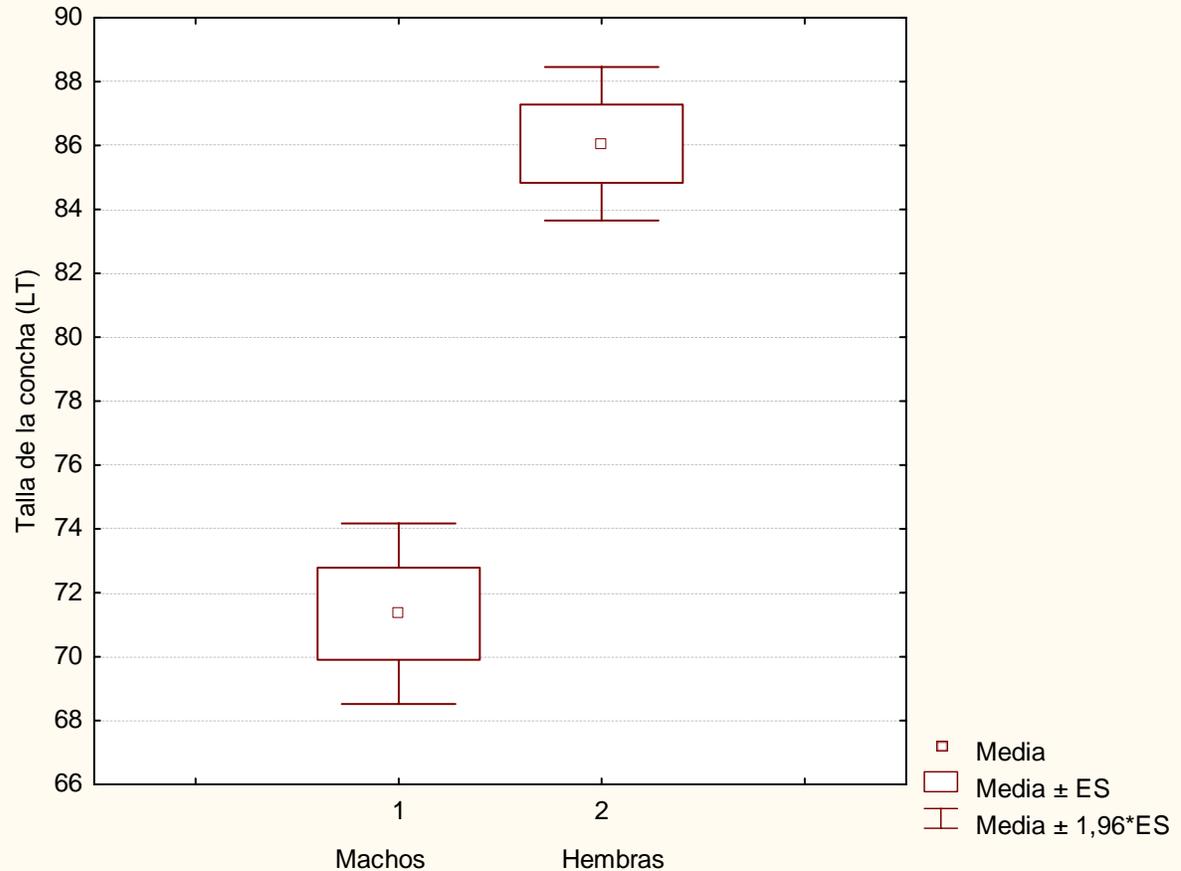


Figura 5.1. Dimorfismo sexual. Talla media y error estándar de hembras y machos

Una vez retirada la concha, los machos se distinguieron fácilmente de las hembras de *Buccinanops cochlidium* por la presencia del pene o ausencia de vagina y glándulas accesorias (de la cápsula y del albumen) (Fig. 5.2). A su vez el color de las gónadas también permitió el sexado. En los machos son de color marrón claro a anaranjado (según estado de madurez) (Fig. 5.2 A) y en las hembras de color blanco a marrón muy claro, cuando se las observó repletas (Fig. 5.2 B). Asimismo cuando las gónadas de ambos sexos se encontraban evacuadas, su aspecto era traslúcido y colapsado, y en el caso de las hembras se observaron algunos oocitos remanentes de color blanco. Por otro lado, a lo largo del ciclo, la gónada se distinguió fácilmente de la glándula digestiva, aunque su separación no fue posible por estar ambos tejidos entremezclados (en especial cuando las gónadas se encontraban inmaduras o evacuadas). En algunos individuos, especialmente los de tallas mayores, las gónadas se observaron de aspecto heterogéneo y de color gris

claro. En algunos ejemplares de tallas pequeñas estaban reducidas a una línea de color apenas diferenciable de la glándula digestiva.

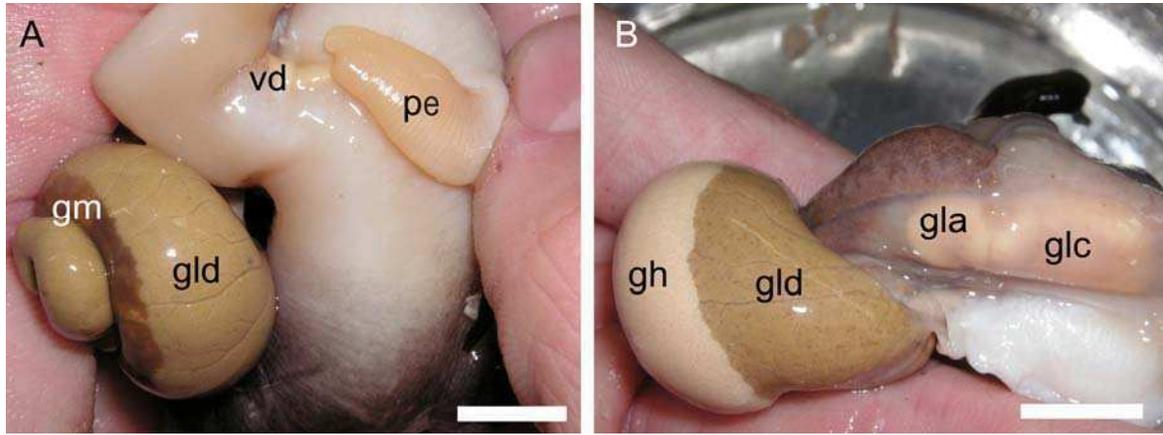


Figura 5.2. Estructuras anatómico-reproductivas. A. Partes blandas de un macho; la gónada es marrón oscura. B. Partes blandas de una hembra; la gónada es blanquecina. Abreviaturas: gónada (gh) hembra; glándula del albumen (gla); glándula de la cápsula (glc); glándula digestiva (gld); gónada macho (gm); pene (pe); vaso deferente (vd). Escalas: (A-B)= 1 cm.

5.3.2 Estructura gonadal

Las gónadas de machos y hembras de esta especie están compuestas por acinos tubulares (distinto de un folículo de vertebrado), y de disposición digitiforme, por lo que en adelante serán referidos como túbulos.

Machos

En las gónadas masculinas cada túbulo, presenta todos los diferentes estadios celulares de la espermatogénesis. Estos distintos estadios se agrupan en racimos originados cada uno de una misma célula (espermatogonia) de la línea germinal. Se desarrollan desde la membrana basal hacia el lumen del mismo (Figs. 5.3 A, B). Las células de Sertoli tienen como función el sostén y la nutrición de todos los estadios gametogénicos en desarrollo. Las mismas se anclan a la zona interna de la membrana basal del túbulo, desde donde dirige proyecciones citoplasmáticas (trabéculas) hacia el lumen del túbulo. Estas ramificaciones se asocian a los distintos grupos celulares, aunque es difícil observarlo al microscopio óptico (Fig. 5.3 C).

Las espermatogonias se caracterizan por poseer escaso citoplasma (levemente acidófilo, que tiñe de color rosado con la eosina) y un núcleo conspicuo (basófilo, que tiñe de color violeta intenso con la hematoxilina) (Fig. 5.3 D). En general se las observa en grupos compactos sin membrana y cercanos al epitelio del túbulo. El estadio celular siguiente es el espermatocito; que se caracterizan por poseer núcleos más grandes. La cromatina se observa de aspecto granuloso (Fig. 5.3 C). Distintos estadios de espermátidas fueron observados (Fig. 5.3 D). A medida que avanza la espermiogénesis el núcleo se modifica, condensándose y luego alargándose en forma aguzada. El citoplasma se reduce, quedando desplazado hacia la zona distal de la célula que dará lugar a la cola del espermatozoide. Los espermatozoides maduros presentan un aspecto alargado. Se caracterizan por poseer una zona nuclear en la punta o cabeza, muy picnótica (basófila), y una cola larga o flagelo (acidófila). Se sitúan libres en el lumen, o unidos al epitelio tubular por las cabezas (Figs. 5.3 B, C). Posterior a la evacuación, la reabsorción se caracteriza por la presencia de los residuos de gametas no evacuadas y células fagocíticas o amebocitos en el interior del túbulo. Éste posee un aspecto flácido (Fig. 5.3 F), y presenta de espermatogonias en proliferación (Fig. 5.3 F).

Dentro de los túbulos espermatogénicos se observó, además de los espermatozoides, la presencia de paraespermatozoides. Se caracterizan por su aspecto esférico y mayor tamaño al de un espermatocito. El material nuclear se encuentra fragmentado en vesículas altamente picnóticas, denominadas *cariomerites* (Figs. 5.3 C, D). En microscopía óptica (MO) no se registraron flagelos en estas células, pero sí se observaron estructuras celulares que podrían ser estadios intermedios de la paraespermatogénesis.

Página siguiente: Figura 5.3. Estadíos gonadales de machos. A- vista general de gónada masculina (gom) y glándula digestiva (gld); B- Aspecto de un túbulo espermatogénico con células espermatogénicas (ce) en distintos estadíos de desarrollo hasta la madurez asociadas al epitelio (et) con células de Sertoli (se) y espermatozoides (ez) en el lumen (lu); C- Detalle de un túbulo en estadio pre-evacuación, se observan espermatoцитos (ec), espermátidas (ed), células paraespermatogénicas (cpe), colas (coe) y cabezas de espermatozoides (cae) en el lumen y asociados a células de Sertoli en el epitelio del túbulo (et); D- Evacuación parcial del túbulo y células paraespermatogénicas conspicuas en estadíos variados; E- Evacuación total y reabsorción, en el lumen quedan residuos (re) reproductivos que comienzan a ser degradados por amebocitos (ms); F- Reabsorción y comienzo de proliferación de espermatogonias (eg) Escalas: A-C= 200 μm ; D= 100 μm ; E-F=200 μm .

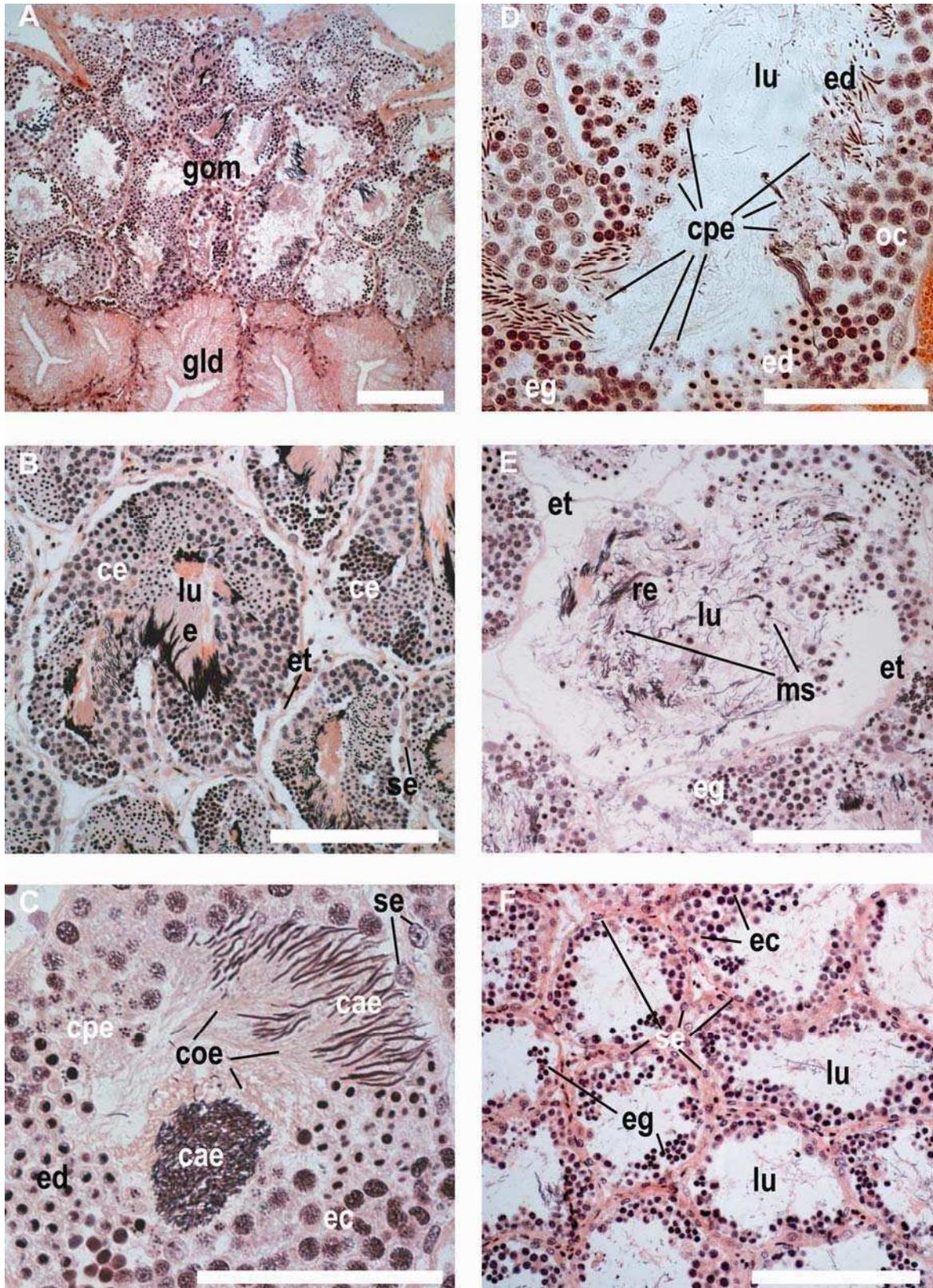


Figura 5.3.

En las imágenes del MEB se observó la estructura tridimensional del túbulo. Las células espermatogénicas, correspondientes a los distintos estadios inmaduros se ubican cercanos a la pared del túbulo y los espermatozoides maduros se observaron hacia el lumen (Fig. 5.4 A) con largas colas delgadas y la cabeza con aspecto de cinta truncada (Fig. 5.4 B).

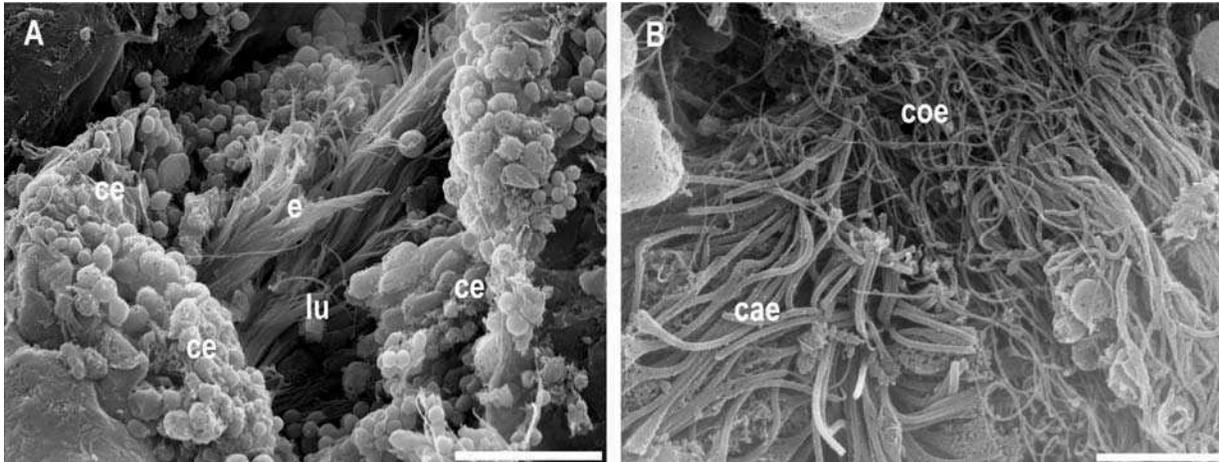


Figura 5.4. Estructura de la gónada masculina. A- Túbulo con células espermatogénicas (ce) y espermatozoides (ez) maduros en el lumen (lu). B- Detalle de los espermatozoides maduros, donde se diferencian las cabezas (cae) y colas (coe). Escalas: (A)= 50 μm ; (B)= 10 μm .

Hembras

El ovario está constituido por túbulos en los que ocurre el proceso de oogénesis.

El primer estadio (proliferación) se caracteriza por la presencia de oogonias (aproximadamente de 40 μm de diámetro) sobre el epitelio del túbulo (Figs. 5.5 A y 5.6 A); luego se transforman en oocitos cuyos núcleos se encuentran menos condensados y su tamaño es mayor. A medida que el crecimiento avanza, los oocitos aumentan su tamaño hasta superar los 220 μm . A la vez comienza la acumulación de vitelo en el citoplasma de la célula, que se observa con aspecto de gotas (Figs. 5.5 B y C).

No se estudió en esta tesis el origen del vitelo de los oocitos, que puede ingresar vía células acompañantes o por autosíntesis. En primera instancia, se observa que los primeros y pequeños gránulos de vitelo se ubican en la región basal de la célula (Figs. 5.5 C y 5.6 D). A medida que la cantidad de vitelo aumenta en el citoplasma celular, la célula

aumenta progresivamente de tamaño ocupando el lumen del túbulo. Los gránulos de vitelo son entonces conspicuos y su aspecto más refringente (Figs. 5.5 D, E y 5.6 B).

Durante el estadio de pre-evacuación el diámetro oocitario supera los 220 μm y su citoplasma se observa totalmente repleto de vitelo. El oocito permanece anclado al epitelio del túbulo por un pedúnculo no siempre visible, y asociado a células acompañantes (distintas de células foliculares), restringidas a la zona del pedúnculo. En esta etapa los oocitos se encuentran listos para la evacuación, y posteriormente se observa el túbulo de aspecto colapsado y donde el espacio previamente ocupado por los oocitos de gran tamaño, se encuentra vacío. Posteriormente, la reabsorción se caracteriza por la presencia de células fagocíticas o amebocitos en el interior del túbulo, un aspecto flácido del epitelio, y la presencia de oogonias en creciente abundancia (Figs. 5.5 F y 5.6 C).

Página siguiente: Figura 5.5. Estadios gonadales de hembras. A- Proliferación: túbulos repletos de oogonias (og) y oocitos (oo) sin vitelo y con núcleos (nu) visibles; B- Aspecto general de la gónada en crecimiento, se observa el epitelio (et) que define a los túbulos; C- Crecimiento: oocitos pedunculados (pd) y con núcleo, con distintas cantidades de vitelo (vi) asociados a células acompañantes (ca) del epitelio; D y E- Crecimiento de los oocitos por acumulación de vitelo, el lumen (lu) se reduce conforme aumenta el tamaño de los mismos; F-Reabsorción: posterior a la evacuación, el lumen libre y los residuos (re) son degradados por amebocitos (ms). Escalas: A= 150 μm ; B= 250 μm ; C-F= 100 μm .

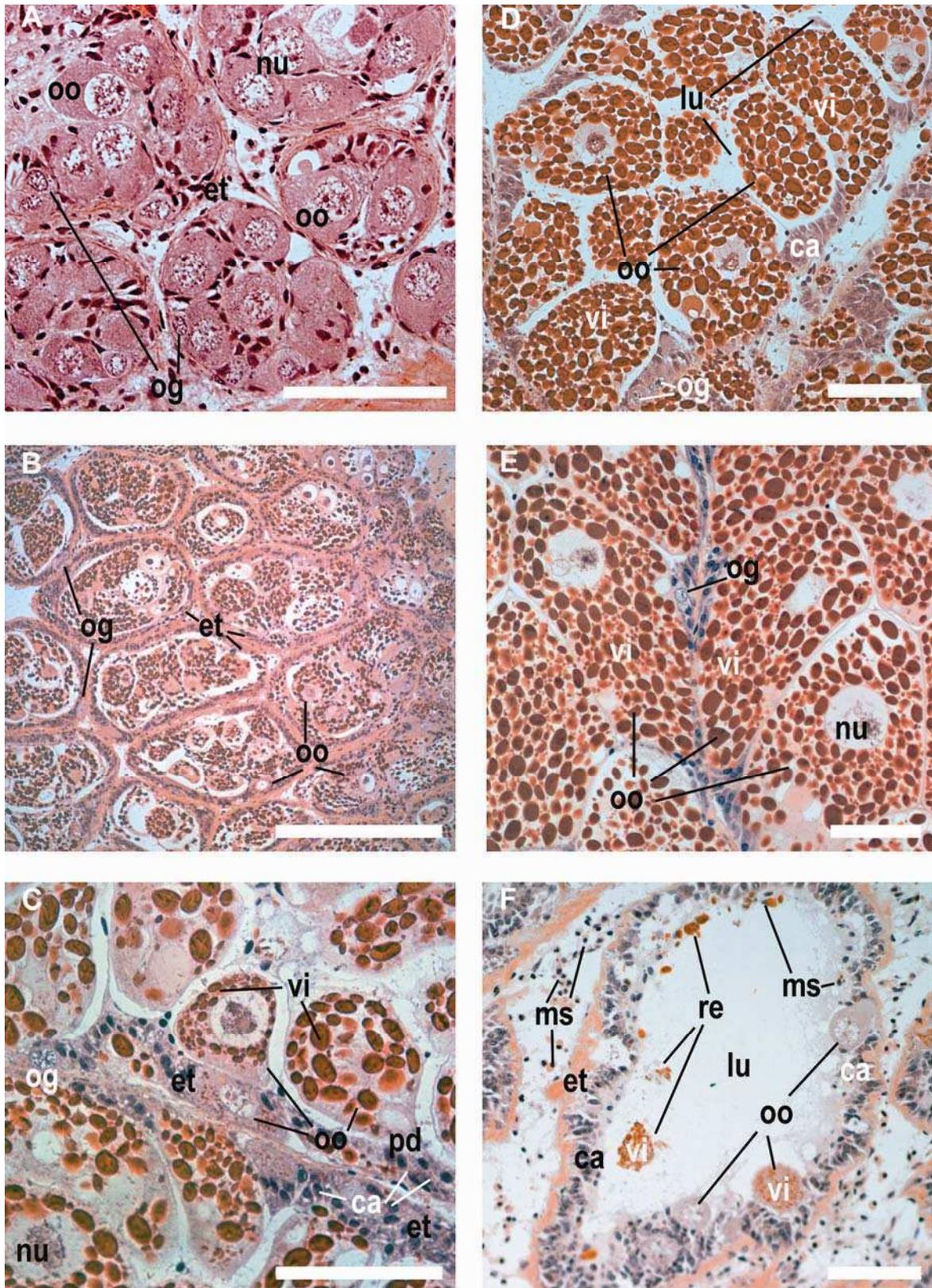


Figura 5.5.

Los preparados de gónadas de las hembras observados en MEB muestran los túbulos tridimensionalmente (Fig. 5.6).

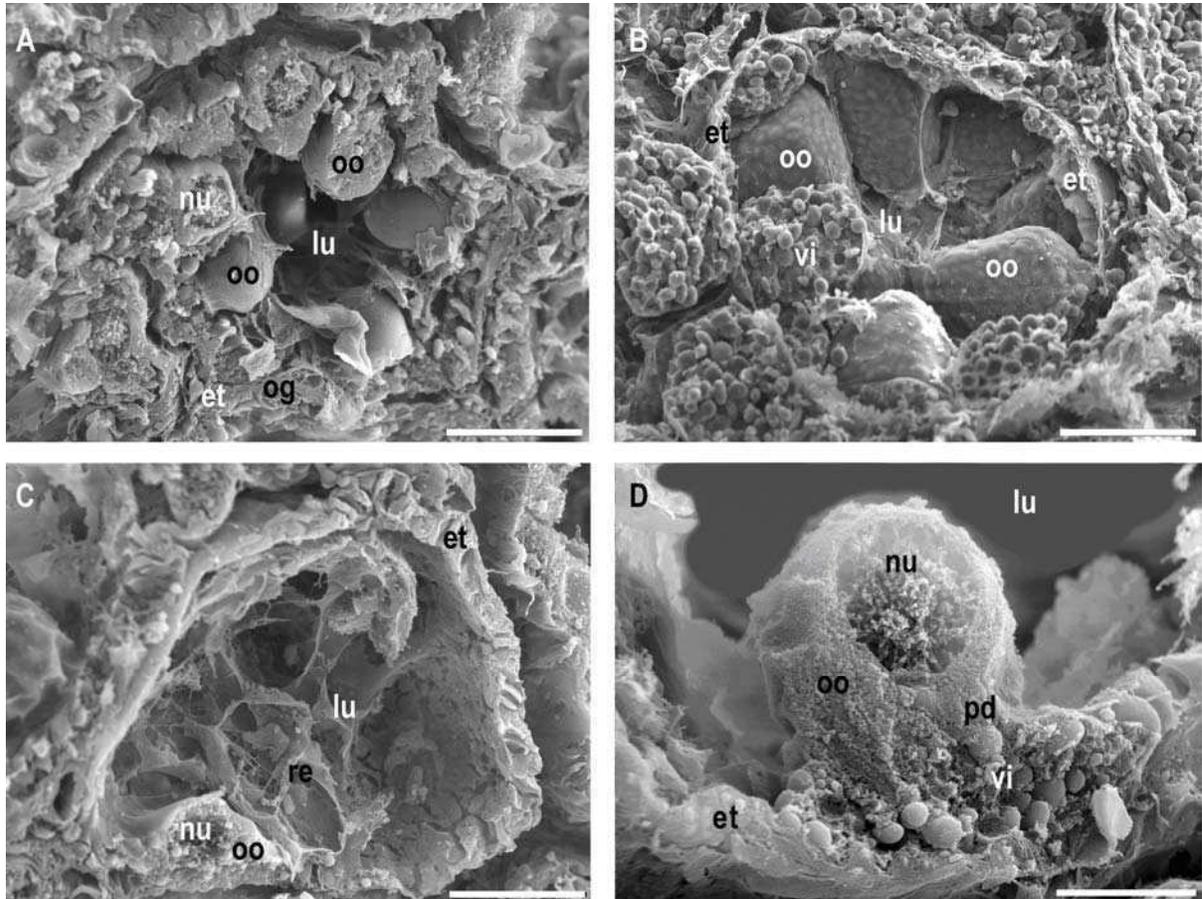


Figura 5.6. Estructura de la gónada femenina. A- Túbulo en crecimiento con oocitos (oo) inmaduros pre-vitelogénicos, también se observan las células soporte del epitelio del túbulo (et) y oogonias (og); B- Túbulo ocupado por oocitos repletos de vitelo (vi); C- Túbulo vacío y con residuos posterior a la evacuación, D- Detalle de un oocito en vitelogénesis incipiente y con núcleo (nu), se observa la acumulación de vitelo en la zona del epitelio del túbulo cercano al pedúnculo (pd). Escalas: A= 50 μ m; B= 100 μ m; C= 50 μ m; D= 20 μ m.

5.3.3 Ciclo gametogénico

Machos

El ciclo gametogénico es un proceso continuo, y para facilitar su entendimiento fue dividido en cinco estadios que se detallan en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1. Estadios de desarrollo gonadal observados en machos.

Estadio	Nombre	Descripción
1	Proliferación	Gran cantidad de espermatogonias y algunos espermatocitos. Presencia de células de Sertoli periféricas al epitelio del túbulo testicular.
2	Crecimiento	Serie espermatogénica incluyendo y pocos espermatozoides anclados al epitelio del túbulo. Células paraespermatogénicas y de Sertoli.
3	Pre-evacuación	Lumen del túbulo repleto de espermatozoides, anclados al epitelio por las cabezas. Presencia de paraespermatozoides y células de Sertoli.
4	Evacuación	Túbulos vacíos o con pocos espermatozoides sueltos en el lumen, y de aspecto turgente. Presencia de células de Sertoli.
5	Reabsorción	Túbulos con restos de espermatozoides en degradación en el lumen, De aspecto colapsado. Presencia de amebocitos.

Los machos muestran actividad espermatogénica durante todo el año, con presencia de todos los estadios de la espermatogénesis en todos los meses muestreados. Además se registró la presencia de espermatozoides maduros durante todo el ciclo, aunque su abundancia disminuyó después de los meses de mayor frecuencia de cópula (entre septiembre y noviembre).

Se observó evacuación de gametas durante todo el año, luego de la cual los túbulos permanecen prácticamente vacíos. Los residuos son reabsorbidos durante todo el año, aunque en mayor medida en los meses en los que sucede la oviposición en las hembras (julio-diciembre). Los espermatozoides maduros una vez evacuados son almacenados en la vesícula seminal, aunque se desconoce cuanto tiempo permanecen allí. La estacionalidad del desarrollo gonadal masculino se observa en la Figura 5.7.

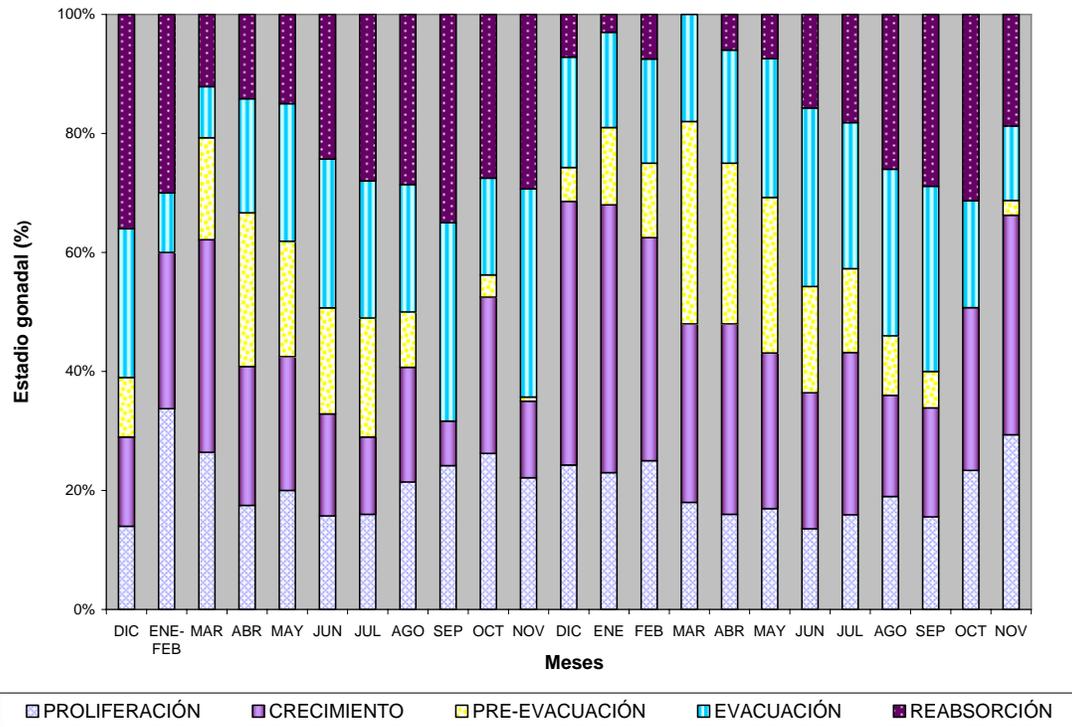


Figura 5.7. Ciclo gametogénico masculino de *B. cochlidium*. Período 2005-2006.

Hembras

El ciclo gametogénico en las hembras es también un proceso continuo que se puede dividir en cinco estadios arbitrarios (Tabla 5.2).

Tabla 5.2. Estadios de desarrollo gonadal observados en hembras.

Estadio	Nombre	Descripción
1	Proliferación	Oogonias y algunos oocitos sin vitelo creciendo en el epitelio del túbulo. Presencia de células acompañantes en contacto con oocitos.
2	Crecimiento	Oocitos en vitelogénesis incipiente, con cantidades crecientes de vitelo y pedunculados. Presencia de células acompañantes.
3	Pre-evacuación	Oocitos completamente vitelados, listos para ser liberados Ocupando todo el lumen tubular. Presencia de células acompañantes.
4	Evacuación	Túbulos vacíos o con pocos oocitos repletos de vitelo y aislados en el lumen; los túbulos se observan turgentes.
5	Reabsorción	Túbulos vacíos con restos de oocitos y amebocitos en el lumen, los túbulos se observan colapsados.

Las hembras, como los machos, muestran actividad gametogénicas todo el año. Se observa proliferación y crecimiento de células gametogénicas en todos los meses analizados. La etapa de proliferación se observa con mayor intensidad entre octubre y febrero, cuando casi no hay oocitos vitelados ocupando el lumen del túbulo (Figs. 5.5 A y 5.6 A). El crecimiento de los oocitos mediante la incorporación de o vitelo sucede mayormente entre enero y junio, hasta alcanzar las tallas máximas de evacuación en la época de oviposición (Figs. 5.5 B-E).

El estadio de pre-evacuación se observa desde abril, aumentando la proporción de individuos en este estado hasta octubre. Los diámetros medidos en los preparados histológicos pueden alcanzar los 260 μm , considerando que los oocitos quedan relativamente comprimidos en el espacio del túbulo deformándose (Figs. 5.5 E y 5.6 B). Durante la etapa de evacuación se liberan todos los oocitos maduros quedando sólo algunos residuos de oocitos, y los oocitos en crecimiento (en general sin vitelo). Se observan hembras en este estadio entre octubre y diciembre, con la máxima frecuencia en noviembre.

En los tejidos gonádicos de cada individuo se observa reabsorción de residuos reproductivos posteriormente a la evacuación de gametas. A nivel poblacional se observa un sincronismo acentuado, encontrándose una elevada proporción de estadios en reabsorción durante los mismos meses que se registró evacuación (de octubre a enero), y con presencia de amebocitos de aspecto estrellado dentro y entre los túbulo, y asociados a residuos celulares. Inmediatamente después, la mayoría de los túbulo se encuentran totalmente vacíos y comienza a observarse la proliferación de nuevas oogonias en la pared del mismo (Fig. 5.5 F). Subsecuentemente aparecen mayor cantidad de oogonias y oocitos retornando al estadio 1 del ciclo.

La disección de las *bursa copulatrix* mostró la presencia de espermatozoides vivos dentro de la misma entre los meses de marzo y octubre.

Se obtuvo la proporción de hembras en cada estadio del ciclo por evaluación de los preparados histológicos (Fig. 5.8).

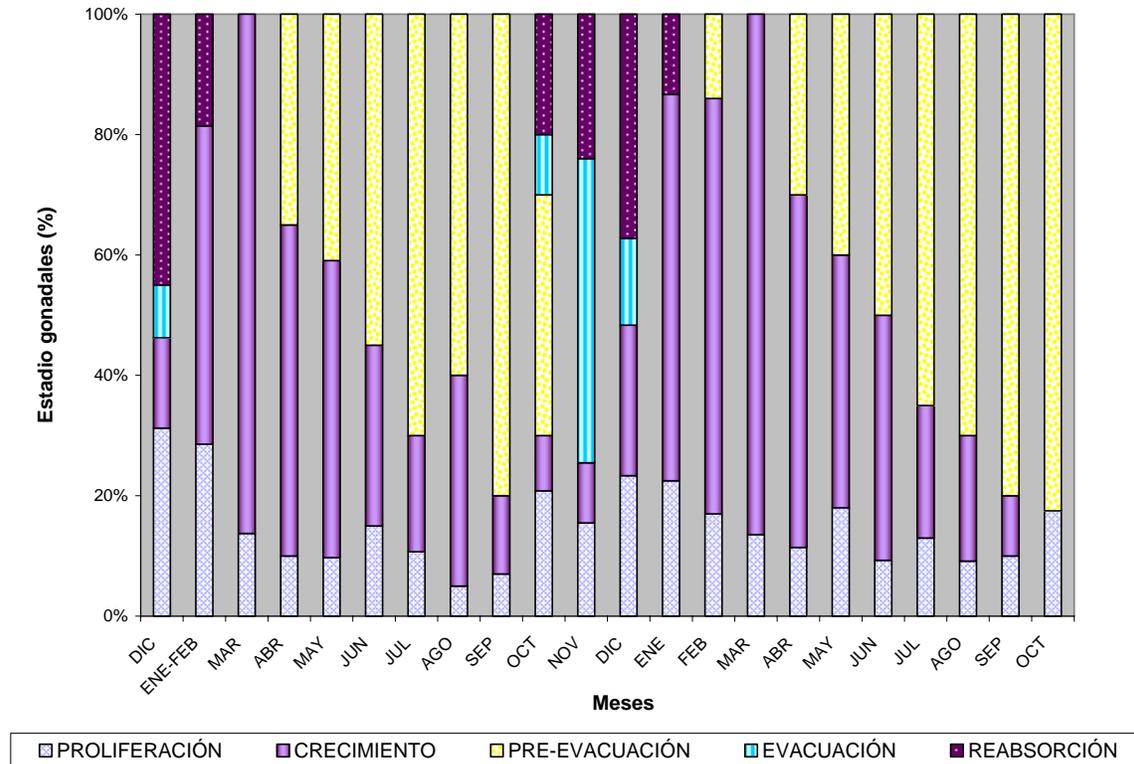


Figura 5.8. Ciclo gametogénico femenino de *B. cochlidium*. Período 2005-2006.

En el caso de las hembras, se estudió complementariamente el ciclo reproductivo mediante el análisis de las frecuencias de diámetro oocitario a través del tiempo. En la Figura 5.9 se presentan los resultados donde se evidencia la variación anual.

A partir de febrero se observan las mínimas tallas oocitarias, principalmente correspondientes a la proliferación y crecimiento. En julio aumenta el valor de las modas, manteniéndose elevadas hasta octubre momento a partir del que ocurren mayoritariamente las evacuaciones totales de las gónadas. Entonces reaparecen las clases de talla inferiores, mientras desaparecen los remanentes de la evacuación (reabsorción), que iniciarán nuevamente la proliferación y crecimiento.

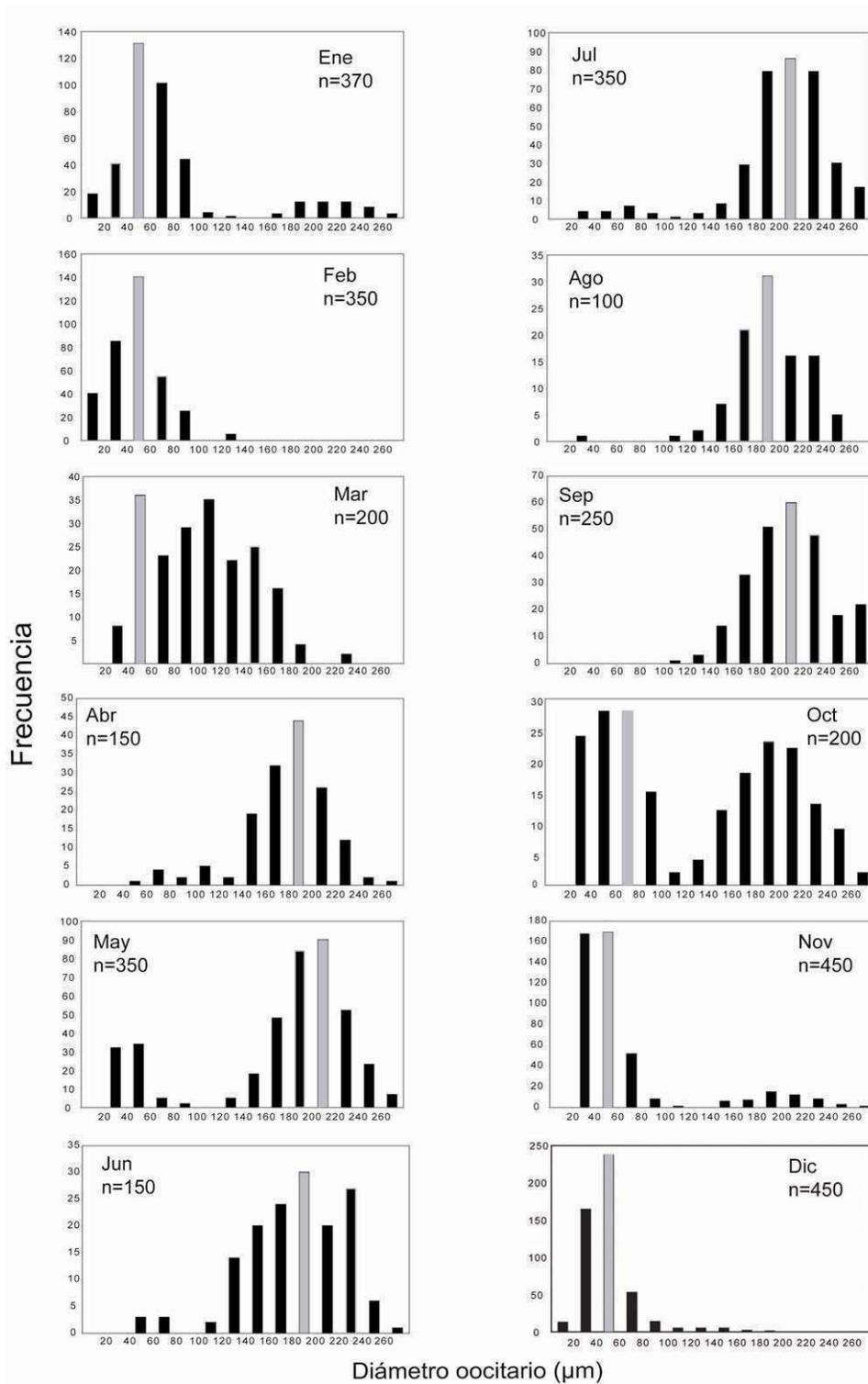


Figura 5.9. Histogramas de frecuencias de tallas oocitarias mensuales (diciembre de 2005-noviembre de 2006). La barra gris corresponde al valor modal.

Al comparar las tallas oocitarias de diferentes estaciones del año, se observaron diferencias significativas entre las estaciones cálidas (primavera-verano) y las frías (otoño-invierno), según se puede observar en la Tabla 5.3 y la Figura 5.10 Debido a que no se observaron diferencias significativas entre meses dentro de cada estación ($P > 0,05$) se eliminó este último factor. Las diferencias entre estaciones continúan siendo significativas (gl: 3; F: 10,55; $P < 0,05$; $n=40$) Se cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas (Cochran test: $C = 0.24$).

Tabla 5.3. Anova de tallas oocitarias estacionales. ns= no significativo; **, $P < 0,01$.

Fuente de Variación	gl	CM	F	P
Estación	3	36671	60,71	**
Tiempo (mes)	4	604	0,17	ns
Residuo	30	3477		

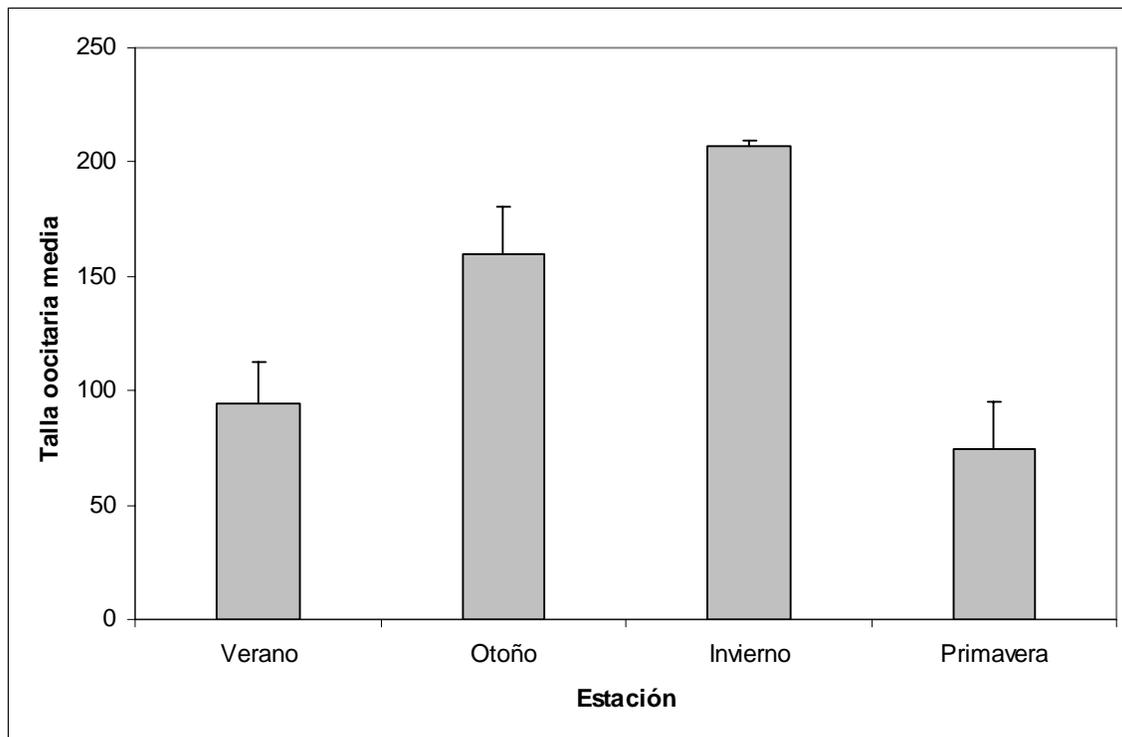


Figura 5.10. Tallas oocitarias medias en μm (barra gris) y su desvío estándar, por estación.

5.3.4 Talla de primera madurez sexual

La talla en que el 50 % de la población muestreada se encuentra gonádicamente madura en machos es de aproximadamente 37 mm de LT (el macho maduro más pequeño midió 28 mm), mientras que en las hembras esa talla es aproximadamente 80 mm de LT (la hembra madura más pequeña midió 79 mm). En las Figura 5.11 y Figura 5.12 se pueden observar las tallas correspondientes del 50 % de individuos maduros en la población. Las funciones correspondientes a machos y hembras son:

$y = \exp(-8,48 + (0,24) * x) / (1 + \exp(-8,48 + (0,24) * x))$ en machos, y

$y = \exp(-101,66 + (1,28) * x) / (1 + \exp(-101,66 + (1,28) * x))$ en hembras.

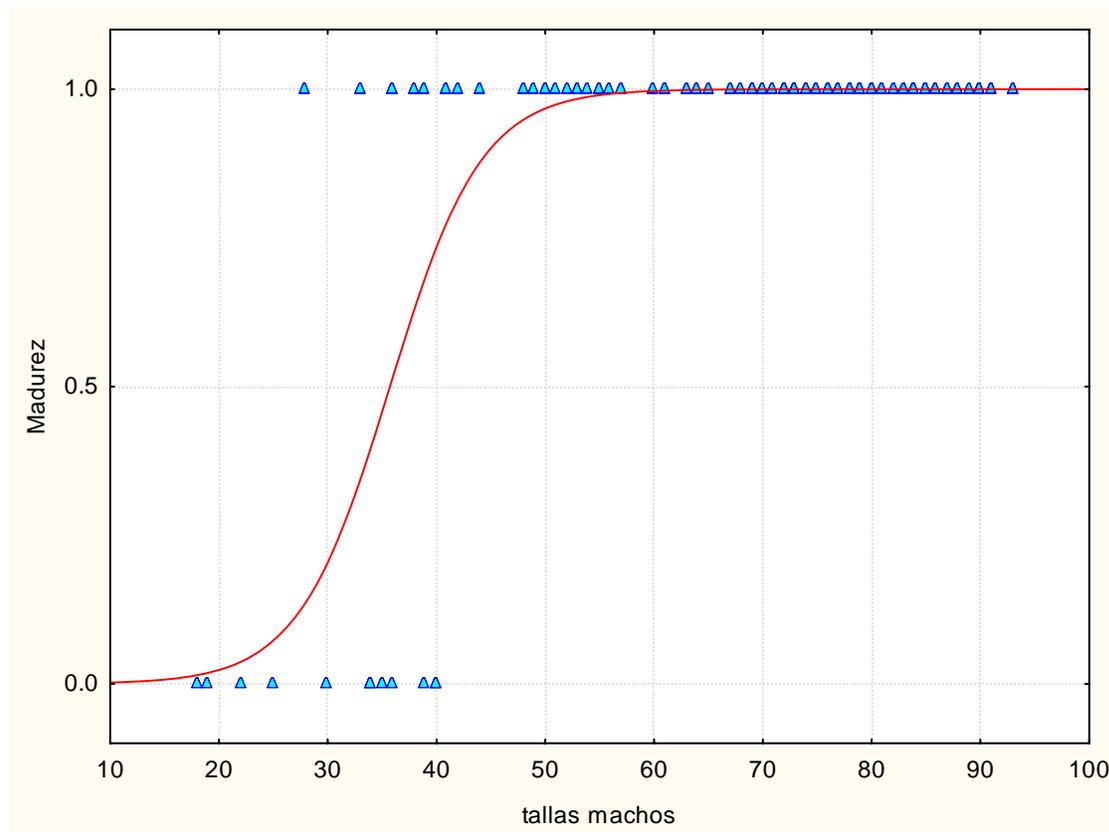


Figura 5.11. Modelo de regresión logística para la madurez gonádica en machos. La talla a la cual más del 50% de la población está madura es a partir de 37 mm. (0= inmaduro, 1= maduro).

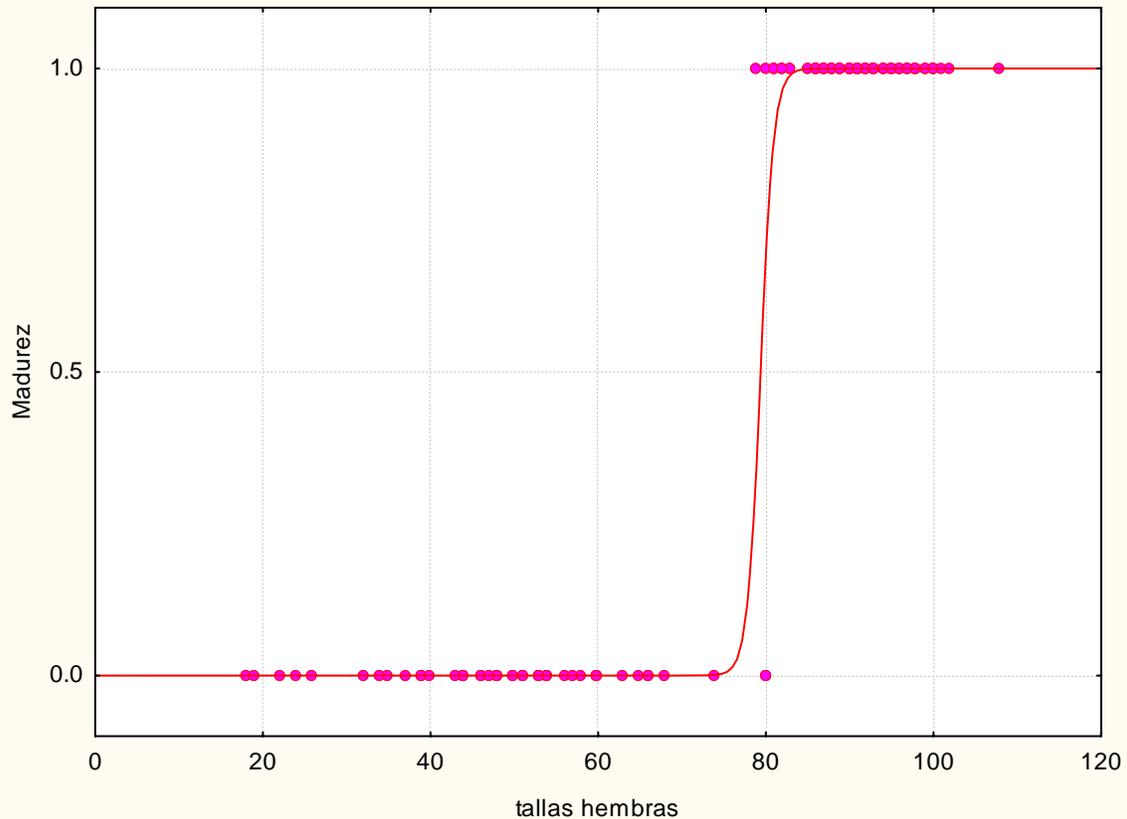


Figura 5.12. Modelo de regresión logística para la madurez gonádica en hembras. La talla a la que el 50% de la población está madura es aproximadamente de 80 mm (0= inmaduro, 1= maduro).

En ambos casos una vez alcanzada la talla de madurez gonádica (según se definió en las Tablas 5.1 y 5.2, respectivamente) los individuos presentaron órganos asociados a la reproducción (cópula y oviposición) conspicuos y completamente desarrollados.

Al analizar el peso de las partes blandas en función de la talla de los ejemplares, se observa un cambio en la pendiente que puede asociarse a la madurez reproductiva. En las hembras esta talla es menor a la de oviposición y a la de primera madurez gonádica, a los 60 mm (Fig. 5.13).

En los machos se observan un quiebre a los 45 mm aproximadamente (Fig. 5.14), mientras que histológicamente la talla que corresponden a la madurez gonádica observada en este estudio es de 37 mm. Un segundo quiebre en la pendiente podría marcarse cerca de los 60 mm. Por otro lado, no se observa un cambio en el crecimiento de los penes, aunque la dispersión observada es levemente mayor en individuos de tallas

menores a 60 mm (Fig. 5.15). Por encima de esta talla corresponde a penes de más de 15 mm.

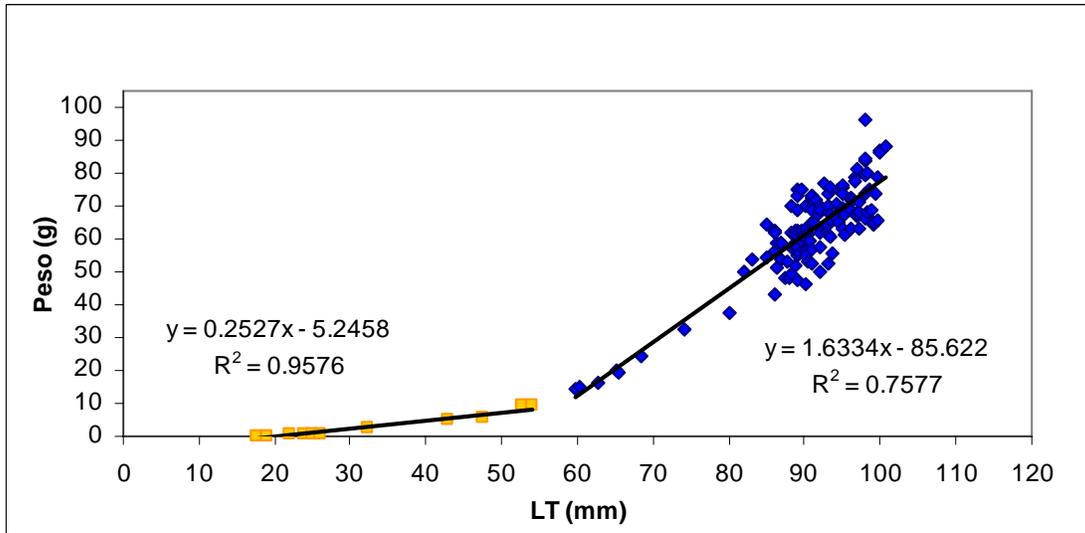


Figura 5.13. Variación del peso (partes blandas) de las hembras para todas las tallas analizadas.

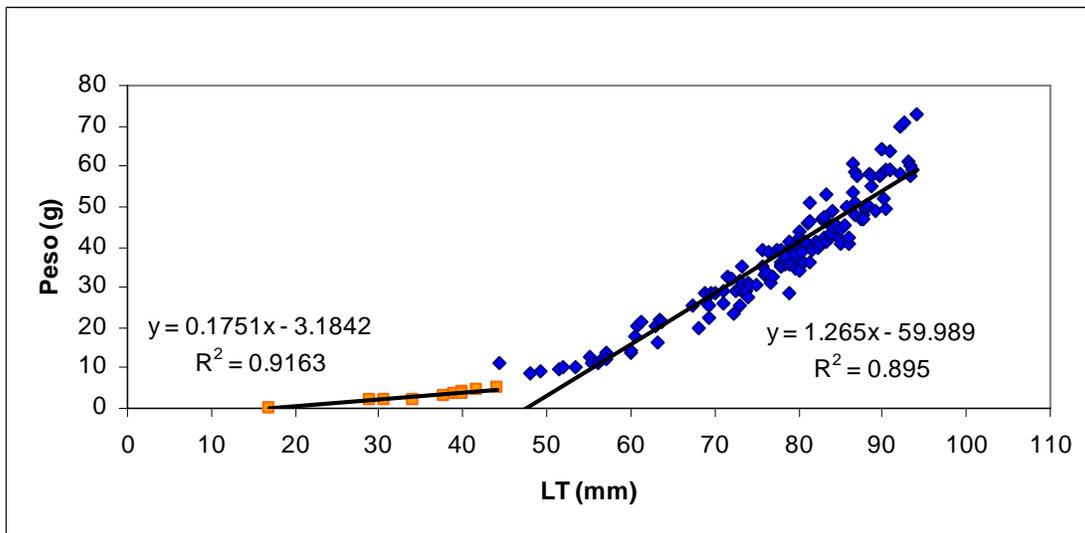


Figura 5.14. Variación del peso (partes blandas) de los machos para todas las tallas analizadas.

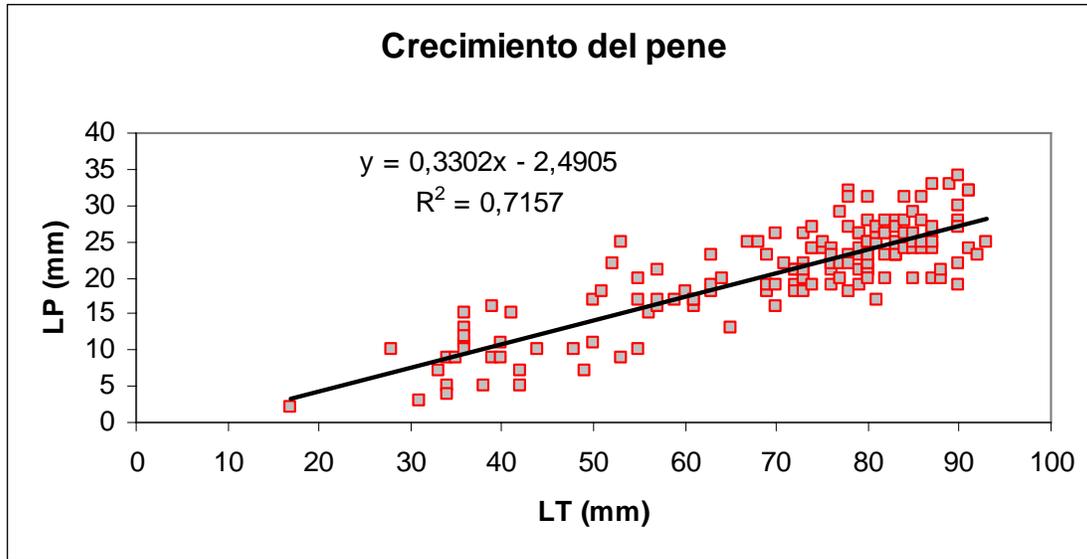


Figura 5.15. Largo del pene de los machos vs talla.

No se observó histológicamente ningún indicio de senilidad en los individuos de mayor tamaño. Todos los eventos en que las gónadas poseían aspecto anormal, o los órganos reproductivos se encontraban reducidos, se relacionaron con el fenómeno de parasitismo. Este ocurre en todo el rango de tallas, aunque principalmente en los adultos.

5.3.5 Imposex

Durante todo el período estudiado no se encontraron indicios de la ocurrencia del fenómeno de imposex en la población de *Buccinanops cochlidium* que habita en playa Villarino (GSJ). El porcentaje de hembras imposexadas fue nulo. También se registró 0% de imposex en *B. cochlidium* de Riacho San José, un apostadero de pescadores artesanales que no utilizan pinturas anti-incrustantes en el casco de sus embarcaciones.

Los registros de muestreos de la población bonaerense (Mar del Plata) de *Buccinanops cochlidium* (= *B. gradatum*) del año 2004 y de zonas cercanas al puerto de esa ciudad, presenta indicios de imposex, en los que los penes de las hembras midieron hasta 10 mm (*datos sin publicar*).

5.4 DISCUSIÓN

5.4.1 Muestreo, procesamiento y estacionalidad

Durante el período de muestreo en el campo no se encontró un carácter externo que permita distinguir machos de hembras, con la excepción de las ovicápsulas adheridas a la concha de hembras reproductivas en los meses de oviposición (julio–diciembre). Una vez removida la concha, la identificación fue inequívoca según los órganos reproductivos secundarios y el color de la gónada, excepto en individuos con tallas menores a 20 mm de largo total de concha (en los que están ausentes los órganos sexuales y la gónada indiferenciada). Aunque se determinó un dimorfismo sexual evidenciado en una diferencia significativa en las tallas de la concha (largo total medio significativamente mayor en hembras), no permitió una separación de sexos rápida y certera en el campo.

5.4.2 Estructura gonadal

Las gónadas de ambos sexos se componen de estructuras tubulares, como en otros neogasterópodos (Voltzov, 1994). El color del testículo varía en tonos de marrón, generalmente más oscuro que la glándula digestiva. El ovario en las hembras tiene un color blanquecino, al igual que los huevos dentro de las ovicápsulas.

Se confirma la existencia de un dimorfismo espermático, con presencia de euespermatozoides y paraespermatozoides en *B. cochlidium*. Este fenómeno ha sido registrado previamente en otras especies de caenogasterópodos (Buckland-Nicks, 1998), incluyendo a varias familias, pero hasta nuestro conocimiento no fue registrado previamente en los Nassariidae. La función del paraespermatozoide es aún incierta, pero algunos autores sostienen que colaboran con el transporte y nutrición de los euespermatozoides, en la fertilización de los oocitos (Healy y Jamieson, 1981; Buckland-Nicks, 1998).

5.4.3 Ciclo gametogénico

El ciclo gametogénico en conjunto con las tallas de madurez sexual (en especial en hembras ovipositoras) son herramientas de gran utilidad al momento de evaluar parámetros de captura para que la explotación de un recurso pesquero sea sustentable. La

temperatura resulta un factor ambiental importante de regulación del desarrollo gonádico en gasterópodos marinos según varios autores (Giese 1959; Giese y Pearse 1974; Martel *et al.*, 1986b). En *Buccinanops cochlidium* se estudió el ciclo gametogénico de machos y hembras, y se lo analizó en relación a las variaciones de la temperatura del agua. Éste muestra una marcada estacionalidad con diferencias de 8 grados centígrados entre el mínimo a fin del invierno (10 °C) y el máximo a fin del verano (18 °C). En dos especies de volútidos que habitan las costas del norte argentino, *Adelomelon brasiliana* y *Zidona dufresnei*, la temperatura parece ser el principal factor regulador de la liberación de gametas (Giménez y Penchaszadeh, 2002; Cledón *et al.*, 2005a). En otros estudios se comprobó que el fotoperíodo y/o la disponibilidad de alimento regulan la reproducción como en el caso de *Odontocymbiola magellanica* (Bigatti *et al.*, 2008). Estos factores podrían estar también involucrados en la reproducción de *B. cochlidium*. *Buccinum isaotakii* de Japón muestra un ciclo coincidente con la estacionalidad de *B. cochlidium* (Ilano *et al.*, 2003), mientras que *B. undatum* de diversos ambientes tiene un ciclo reproductivo y una época de oviposición variables en relación a las temperaturas del agua (Martel *et al.*, 1986b; Valentinsson, 2002).

Los machos muestran actividad gametogénica continua durante todo el año, sin época de reposo. El leve aumento observado en el estadio de pre-evacuación ocurre en marzo en coincidencia con el máximo de temperatura del agua (inicio de la cópula) mientras que la mayor evacuación sucede en octubre con las temperaturas más bajas (previo a los meses de oviposición de las hembras). Esto contrasta con lo observado mayoritariamente en los Caenogastropoda (Giese y Pearse, 1977), como los machos de *Buccinum undatum* de Canadá cuyas gónadas comienzan a madurar al final del invierno (Martel *et al.*, 1986a).

El ciclo gonadal de las hembras muestra una acentuada estacionalidad. No existe una fase de reposo estricta con actividad gametogénica durante todo el año, a diferencia de lo registrado en los volútidos *Zidona dufresnei* y *Adelomelon brasiliana* (Giménez y Penchaszadeh, 2002; Cledón *et al.*, 2005a). La evacuación total de oocitos ocurre casi en simultáneo a la reabsorción (octubre-diciembre), seguida del aumento en los niveles de proliferación y crecimiento. Los elevados niveles de proliferación y crecimiento registrados en los meses post-evacuación se relacionan con una mayor abundancia

relativa de estos estadios respecto de los oocitos repletos, al estar el lumen de los túbulos vacíos.

El carácter continuo del ciclo femenino también puede verse en los histogramas mensuales de tallas oocitarias. Según estos resultados y teniendo en cuenta las diferencias significativas encontradas entre estaciones (relacionadas con los cambios de temperatura), puede distinguirse que en otoño e invierno predomina el crecimiento oocitario (vitelogénesis) acompañado por el descenso de la temperatura del agua (durante la época de cópula). Complementariamente, en primavera (oviposición) y verano (cuidado de las ovicápsulas) la evacuación, reabsorción y proliferación son los estadios predominantes, asociados al ascenso de la temperatura.

5.4.4 Talla de primera madurez sexual

Las tallas de primera madurez reproductiva observadas difieren entre sexos. Los machos maduran rápidamente presentan gametas maduras en sus gónadas (37 mm de LT). Probablemente comienzan a copular realmente a tallas todavía mayores en las que el peso aumenta y desarrollan un pene de tamaño funcional, lo que le permitiría manipular a una hembra madura de mayor talla. En numerosas especies de buccínidos se registraron tallas de madurez reproductiva menores en machos, así como un proceso retardado en las hembras (Ilano *et al.*, 2003), asociándolo a una inversión reproductiva mayor en estas últimas. En las hembras coincide la talla de primera madurez con la de oviposición (80 mm de LT). El cambio de la tasa de incremento en peso a una talla de 60 mm puede relacionarse al aumento de masa determinado por el desarrollo de las glándulas reproductivas accesorias, como en *A. brasiliiana* (Cledón *et al.*, 2005a) o a una inversión temprana en crecimiento somático necesaria para una enorme inversión reproductiva posterior.

La talla de primera madurez reproductiva a los 80 mm en las hembras debe ser considerada como un mínimo excluyente de captura, asegurando su participación en al menos dos estaciones reproductivas, y evitar capturar hembras portando ovicápsulas. La talla de primera madurez en los machos es inferior a la de las hembras, pero al ser difícilmente diferenciables en el campo, la talla de captura en ambos sexos debería

restringirse a lo sugerido para las hembras. La pesca debe ser artesanal, por buceo y selectiva, nunca por redes de arrastre.

El desarrollo del pene no parece ser una variable útil para evaluar el grado de madurez reproductiva, al menos en el rango de tallas muestreadas. Sería interesante considerar los individuos de tallas menores a 30 mm, para los cuales existen muy pocos datos registrados en este estudio.

No se observó a nivel histológico-gonadal ningún indicio de que la reducción de estructuras reproductivas se debiera a senilidad en individuos de mayor tamaño. El fenómeno de parasitismo observado en una parte de la población reproductivamente activa parece una mejor explicación para la reducción de órganos reproductivos, y se estudió en detalle en el capítulo IV.

5.4.5 *Imposex*

La ausencia de imposex en las poblaciones de *Buccinanops cochlidium* del golfo San José concuerdan con lo esperado para sitios de bajo tráfico marítimo y alejado de embarcaderos y puertos (Penchaszadeh *et al.*, 2001). Estos resultados forman parte de un estudio realizado a lo largo de toda la costa Argentina con especies intermareales y submareales de neogasterópodos como bioindicadores (Bigatti *et al.*, en revisión, a).

En una población de *B. cochlidium* de Mar del Plata se observó desarrollo de pene y vaso deferente en hembras. Las observaciones de hembras de *B. cochlidium* imposexadas en Mar del Plata coinciden con los resultados para otras especies de esa zona con alto tráfico marítimo (Penchaszadeh *et al.*, 2001; Goldberg *et al.*, 2004).

La playa Villarino es un sitio libre de contaminación por órgano-estañosos, y por lo tanto un lugar recomendable para realizar estudios reproductivos y ecológicos. Otras especies de gasterópodos estudiados en la misma zona (ej.; *Odontocymbiola magellanica*, *Trophon geversianus*) mostraron el mismo resultado negativo (Bigatti, com. pers.). Más aún, en zonas del mismo golfo cercanas a apostaderos de embarcaciones de pesca artesanal local (Riacho San José), que no utilizan pinturas anti-incrustante en sus cascos, tampoco se observó este fenómeno (Bigatti *et al.*, 2009).

CAPÍTULO IV

6 Parasitismo: caracterización y consecuencias

6.1 INTRODUCCIÓN

El fenómeno del parasitismo en caracoles marinos por parte de trematodes digeneos es ampliamente conocido (Wright, 1966; Køie, 1969; Lauckner, 1980). Los caracoles pueden actuar como primer o como segundo hospedador intermediario de los digeneos. En el primer caso albergan los estadíos que se reproducen asexualmente (esporocistos y/o redias en cuyo interior se desarrollan las cercarias) y en el segundo albergan metacercarias (estadío infectivo para un vertebrado hospedador definitivo) (Lauckner, 1980). En un ciclo de vida típico las cercarias, que se originan en el interior de los esporocistos y/o redias, emergen de los moluscos infectados e ingresan al mismo o a otro hospedador intermediario (un molusco u otro invertebrado, o un vertebrado).

En los casos en los que el caracol actúa como primer hospedador, la infección suele acarrear la castración y hasta la muerte del mismo. Los estadíos dentro del molusco tienen lugar en el hemocele y ocupan principalmente la gónada, y también la glándula digestiva. Debido a que estos estadíos se reproducen asexualmente, los caracoles se encuentran infectados con numerosos esporocistos y/ redias, los cuales contienen cercarias en desarrollo en su interior. Estos estadíos pueden ocupar cerca de la mitad del volumen normal de la glándula digestiva y reemplazar la gónada por completo causando castración, debilitamiento y reducción de tolerancia al stress físico-ambiental (Willey y Gross, 1957; Vernberg y Vernberg, 1963; Ginetsinskaya, 1988; Rohde, 2005). La castración se ha atribuido a causas tanto a la necrosis de los tejidos del hospedador por la presión ejercida por los esporocistos y/o redias (mecánicas), como a la secreción de sustancias que inhiben la espermatogénesis u oogénesis, por parte de los parásitos (químicas) (Galaktionov y Dobrovolskij, 2003). Típicamente, los moluscos permanecen infectados de por vida.

En general, en las invasiones por esporocistos y/o redias no se observan reacciones celulares, lo cual sugiere ausencia de respuesta inmune a la presencia de estos estadíos larvales (Cheng y Rifkin, 1970; Perkins, 1993). Sin embargo, pueden ocurrir reacciones

debido a la presión ejercida sobre los epitelios de la glándula digestiva, o por ingesta de tejidos y nutrientes celulares por parte de las redias (Køie, 1975; Lauckner, 1980).

En el caso de gasterópodos del Mar Argentino, entre los escasos trabajos publicados sobre parasitismo por trematodes digeneos en gasterópodos se reporta la presencia de redias de la familia Lepocreadiidae en la gónada de *Buccinanops monilifer* de Mar del Plata (Martorelli, 1991). Las cercarias descritas son de tipo tricocerca oculadas y pertenecerían al género *Opechona*; sus segundos hospedadores intermediarios serían medusas, y un pez pelágico medusófago, su hospedador definitivo (Martorelli, 1991).

En este capítulo se estudia la presencia de parásitos en la gónada y glándula digestiva de individuos de *Buccinanops cochlidium* del golfo San José. Se caracterizaron los organismos parásitos encontrados y estudió su prevalencia, estacionalidad y consecuencias a nivel reproductivo.

6.2 MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1 Caracterización del parásito

El material colectado y procesado para el análisis del ciclo reproductivo de *Buccinanops cochlidium* se utilizó para estudiar el fenómeno de parasitismo en esta especie. Se examinaron los cortes histológicos obtenidos del estudio reproductivo (capítulo III), observando las características de las larvas parásitas presentes con énfasis en aquellos caracteres diagnósticos. Adicionalmente, con el objetivo de estudiar *in vivo* a las larvas primeramente detectadas en los cortes histológicos, el 20 de octubre de 2008, se colectaron por buceo autónomo 15 ejemplares de *B. cochlidium*. Los mismos fueron colocados en recipientes individuales con agua de mar por 48 hs y observados a intervalos regulares para detectar la emisión de cercarias. Las cercarias emitidas se tiñeron con el colorante vital Rojo neutro y/o azul de Nilo, para su estudio bajo microscopio óptico.

6.2.2 Prevalencia y estacionalidad

Se registró el porcentaje de individuos machos y hembras afectados, calculando la prevalencia mensual. Se estudiaron las prevalencias mensuales en un ciclo anual, y por otra parte se compararon las mismas en relación a las tallas (longitud total de la concha= LT) y sexos del hospedador. Se estableció una escala para definir el grado de

desarrollo de los estadios presentes en los cortes histológicos, dependiendo del estadio de desarrollo predominante observado (0= esferas germinales, 1= cercarias en desarrollo y 2 = cercarias completamente desarrolladas) con el fin de establecer una posible estacionalidad en la emisión de cercarias. Las cercarias se consideraron completamente desarrolladas cuando se observaron colas largas con setas, manchas oculares, ovario y testículos.

El fenómeno de senilidad reproductiva, es decir, reducción de órganos sexuales (pene y glándulas reproductivas accesorias) en individuos gerontes se discutió en relación al parasitismo.

6.2.3 Estadística

La proporción de sexos de los organismos parasitados se comparó mediante una prueba de χ^2 . Se compararon asimismo las tallas de individuos con y sin parásitos mediante una prueba t de Student (previamente se comprobaron los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad).

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Caracterización del parásito

Se registró la presencia de parásitos durante todo el período de estudio, principalmente ocupando la gónada del caracol, y en ocasiones parte de su glándula digestiva. Macroscópicamente, las gónadas afectadas presentaban un aspecto anormal, tanto en color (grisáceo) como aspecto general (heterogéneo), coincidiendo con la presencia de trematodes en los preparados histológicos. La especie *Buccinanops cochlidium* actúa como primer hospedador intermediario en el ciclo del digeneo.

El organismo parásito registrado es un trematode digeneo de la familia Lepocreadiidae, en estadio de redia con esferas germinales y cercarias en distintos estadios de desarrollo. Algunas características de esta familia, que se observan en los cortes histológicos, son la pared del cuerpo o tegumento con espinas de gran tamaño (Fig 6.1. A-C), dos manchas oculares a nivel de la faringe (Fig 6.1. B), una larga cola con setas (de tipo tricocerca) (Fig 6.1. B), y se observa también una ventosa oral subterminal y otra ventral (Fig. 6.1. A), la faringe (Fig 6.1. A), dos ciegos intestinales que llegan hasta el final del cuerpo (Fig. 6.1. A), un ovario pre-testicular de aspecto

triangular y dos testículos en tándem (Fig. 6.1. C). Esto corresponde a la descripción de una cercaria tricocerca oculada (con manchas oculares y cola con setas).

En los preparados de microscopía electrónica de barrido (MEB) se observa la disposición espacial de las larvas de digeneos en una gónada, la cual ocupan totalmente (Fig. 6.1. D), y en detalle el cuerpo de una cercaria con ambas ventosas y el tegumento con espinas (Fig. 6.1. E-F). De los 15 ejemplares de *B. cochlidium* colocados en recipientes individuales, uno de ellos emitió una gran cantidad de cercarias tricocercas oculadas, visibles a ojo desnudo. Se las estudió bajo el microscopio óptico montadas sobre preparaciones transitorias, confirmándose las características observadas en los cortes histológicos (Fig. 6.2. A-F). Otra característica observada fue la presencia de vesículas excretoras con aspecto de gránulos refringentes, que sobrepasan la ventosa ventral (Fig. 6.2. A).

Páginas siguientes (96-97):

Figura 6.1. Microscopía óptica y electrónica de barrido. A- Gónada ocupada por el parásito. Se observa el cuerpo de una cercaria (flecha); B- Redias conteniendo esferas germinales (eg) y cercarias en desarrollo (cd) y la cola (co) de una cercaria desarrollada; C- Parte posterior del cuerpo de una cercaria desarrollada, se observan los testículos (to) y el ovario (ov); D- Aspecto general de una gónada totalmente ocupada por redias y cercarias (flecha); E- Cuerpo de la cercaria donde se observa el tegumento espinoso; F- Detalle de una ventosa oral (vo). Escalas: (A-C) = 100 μ m, (D) = 1000 μ m, (E) = 100 μ m, (F) = 10 μ m.

Figura 6.2. Cercarias en vivo. A- Cuerpo de una cercaria desarrollada donde se observan las manchas oculares (mo), el esófago (e) y ciegos intestinales (ci) y la vesícula excretora con gránulos refringentes que sobrepasa la ventosa ventral (vv); B- Extremo anterior de la cercaria, manchas oculares, faringe (f), esófago que se bifurca originando los ciegos digestivos y ventosa ventral; C- Extremo anterior de la cercaria, donde se observa la ubicación relativa de las manchas oculares y la faringe; D- Ventosa oral subterminal con papilas y tegumento con espinas (es) de gran tamaño; E- Vista general de la cercaria F- Extremo de la cola (co) con setas. Escalas: (A) = 150 μ m, (B-E) = 100 μ m, (F) = 50 μ m.

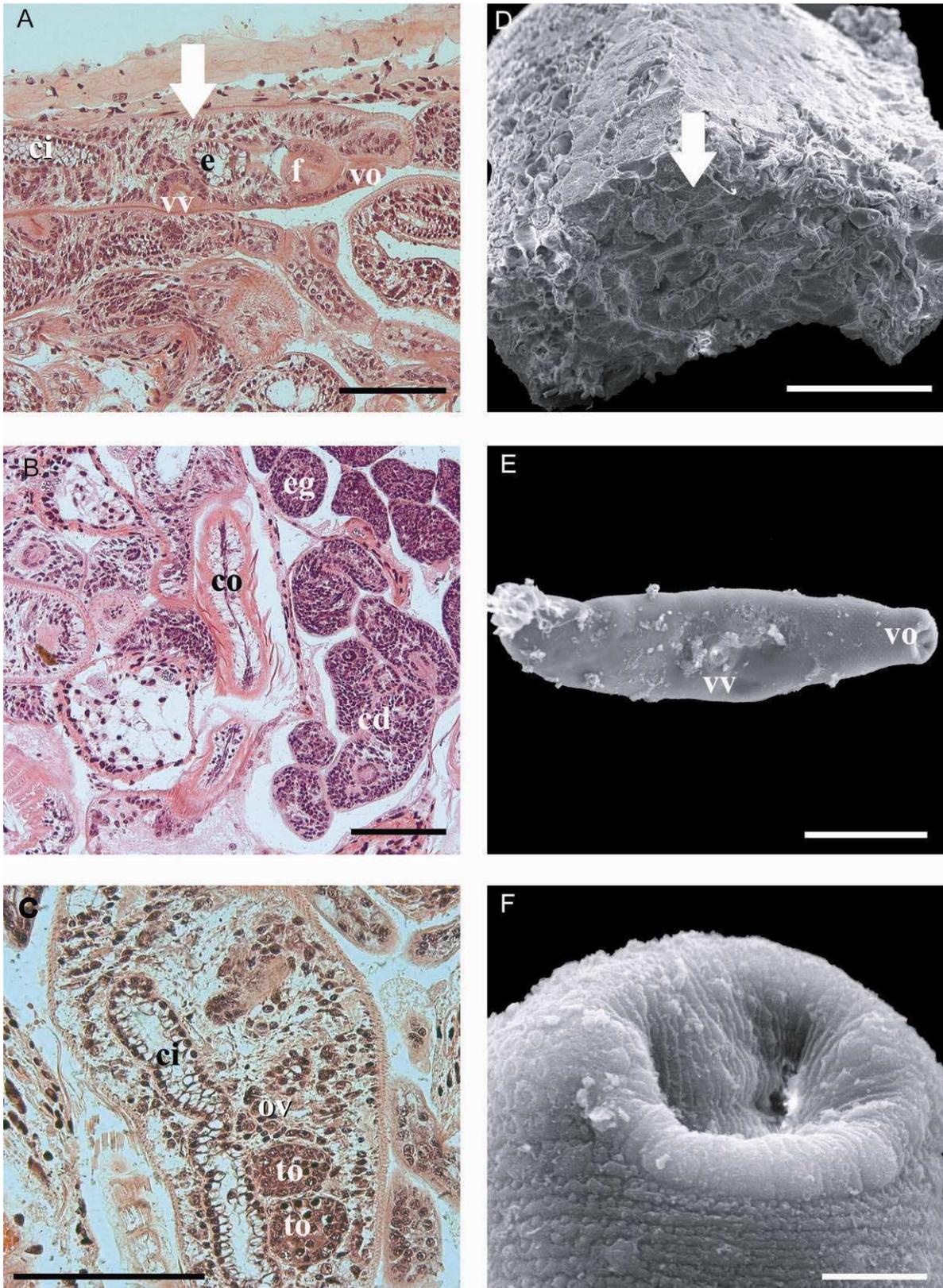


Figura 6.1.

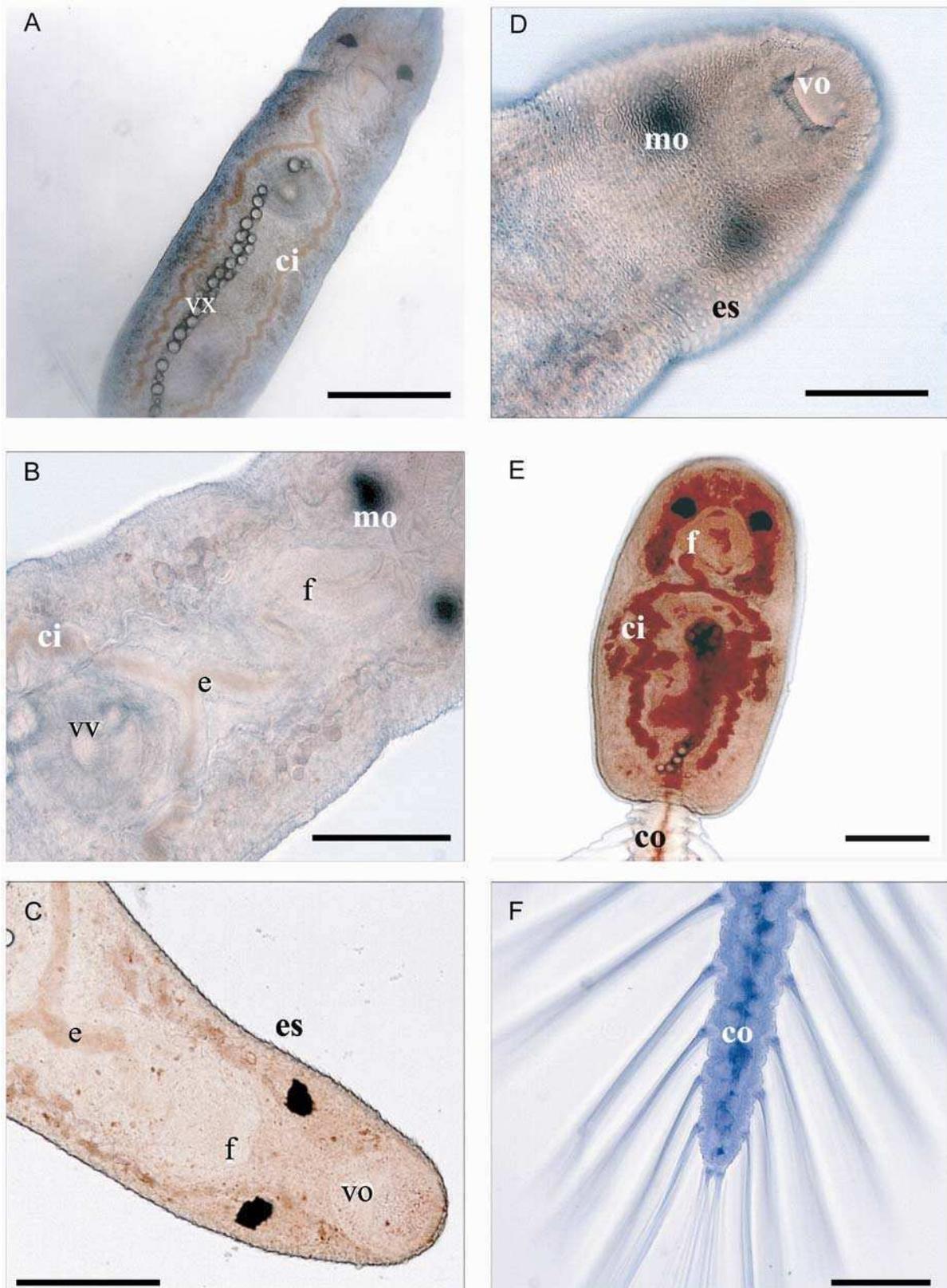


Figura 6.2

6.3.2 Prevalencia y estacionalidad

No se observó otro tipo de parásito en la gónada ni en la glándula digestiva de *Buccinanops cochlidium*. La prevalencia (número de ejemplares infectados de una muestra) total fue de 15,6% (n= 429), y varió mensualmente entre 0 y 54,2% (este máximo fue registrado en febrero de 2006 con una muestra de n= 24) durante el período de estudio.

En la mayoría de los casos la gónada se encontraba totalmente ocupada por parásitos. El 53,7% de los individuos parasitados fueron machos (entre 37 y 94 mm de LT) y el 46,3% restante fueron hembras (entre 44 y 107 mm de LT). No se observaron diferencias significativas en la proporción de sexos de los individuos parasitados (df= 65; $\chi^2 = 2,0$; $p > 0,05$; n= 65), por lo que se trataron los datos en conjunto para analizar las diferencias de prevalencias entre tallas y meses del año. Se observaron diferencias significativas entre las tallas de los individuos parasitados ($84,1 \pm 17,0$) y los no parasitados ($75,4 \pm 20,3$) (df= 407; $t = 3,228$; $p < 0,005$; n= 409). La distribución de tallas de los caracoles parasitados y no parasitados se observa en la Figura 6.3.

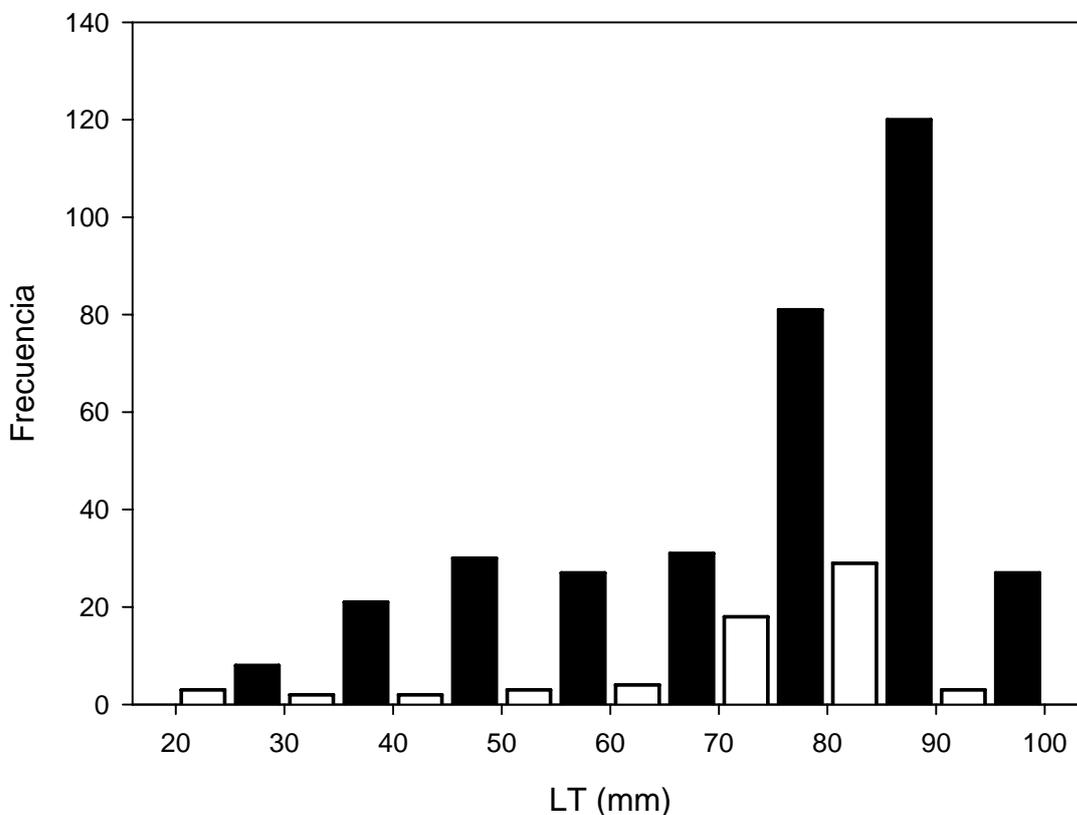


Figura 6.3. Histograma de tallas de caracoles parasitados (blanco) y no parasitados (negro).

Se observó una reducción en el tamaño de los penes de machos adultos parasitados. Sin embargo, en ningún caso se hallaron indicios a nivel histológico de reversión de sexo. (Fig. 6.4). Al graficar la relación entre el tamaño de la concha y el tamaño del pene, es posible observar este efecto al existir una pendiente mayor para los individuos no parasitados ($f(x)=0,33*x-2,4905$; $r^2= 0,7157$) que para los parasitados ($f(x)=0,1003*x+3,912$; $r^2= 0,1541$).

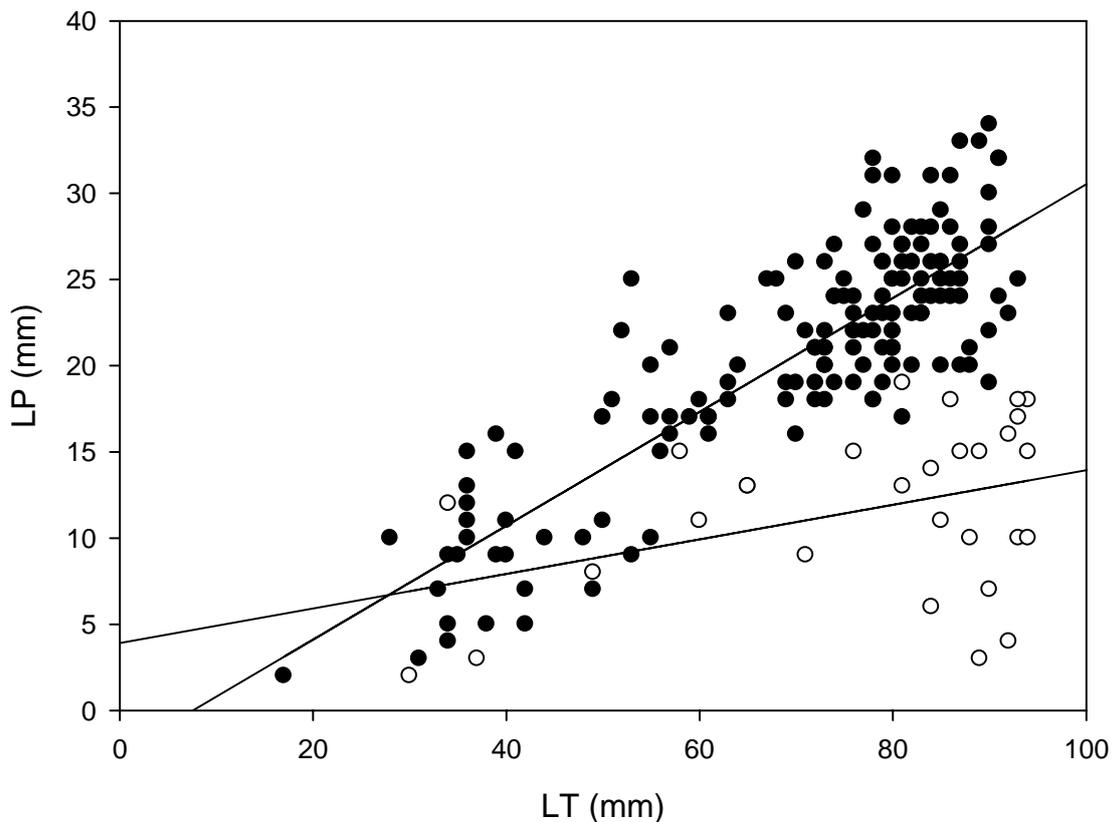


Figura 6.4. Relación entre la talla de la concha (LT) y la talla del pene (LP) de machos parasitados (blanco) y no parasitados (negro).

Las tallas (LT) de las conchas de los machos parasitados no resultaron significativamente diferentes de las de los no parasitados ($t= -1,87$; $p> 0,05$; $n= 192$), aunque si levemente mayores en promedio. Teniendo en cuenta este resultado, se compararon directamente las tallas de pene como parámetro de reducción en individuos parasitados, que resultaron ser significativamente menores a las de los individuos no parasitados ($t= 6,94$; $p< 0,001$; $n= 192$).

Del total de las hembras parasitadas (n= 30), en 6 casos se encontró que las glándulas del albumen y de la cápsula evidenciaban una reducción en su tamaño. Ésto implicó que ambas glándulas fueron notoriamente más delgadas que las de las hembras no parasitadas y carecieron además de conexión continua entre ambas; incluso evidenciaron obliteración del espacio interno. Las 6 hembras observadas midieron más de 95 mm.

Por otra parte, sólo 2 (de 94 y 92 mm de LT) de las hembras parasitadas recolectadas en meses de oviposición (n= 17) evidenciaron ovipostura (por las ovicápsulas o residuos adheridas a su concha).

Si bien se hallaron individuos parasitados durante todos los meses del año, los caracoles conteniendo predominantemente cercarias completamente desarrolladas, se observaron entre los meses de octubre a mayo. Los individuos parasitados por redias conteniendo predominantemente esferas germinales o cercarias aún no desarrolladas aumentan desde junio hasta noviembre (Fig. 6.5).

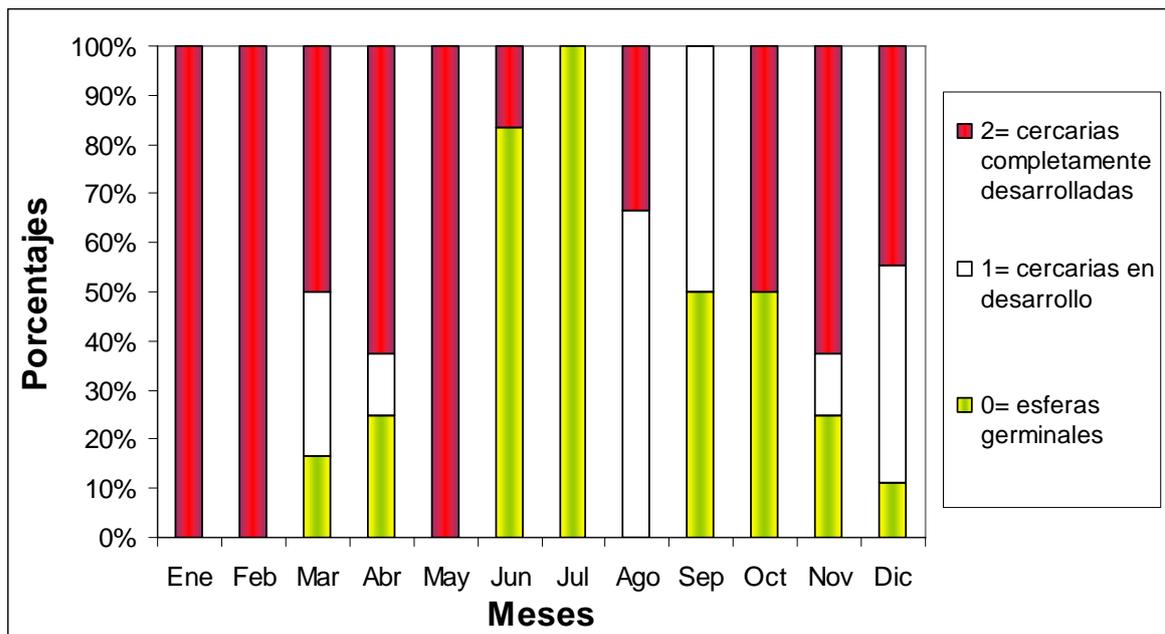


Figura 6.5. Frecuencia de cada estadio de desarrollo (0= esferas germinales, 1= cercarias en desarrollo y 2 = cercarias completamente desarrolladas) en un ciclo anual.

6.4 DISCUSIÓN

En ese trabajo se cita la presencia de un único tipo de parásito en la gónada de *Buccinanops cochlidium* del golfo San José, Patagonia.

6.4.1 Caracterización del parásito

La presencia de parásitos en la gónada es reportada en esta tesis, por primera vez en *B. cochlidium*. A partir de cortes histológicos, preparaciones temporales y observaciones al microscopio electrónico de barrido, se determinó la presencia de un único tipo de parásito en sus gónadas, y en menor medida en el hepatopancreas. Se identificó al parásito como un trematode digeneo, perteneciente a la familia Lepocreadiidae, al poseer una cola con setas y manchas oculares en el estadio cercaria desarrollada (tipo tricocerca oculada). La observación *in vivo* de las cercarias emitidas en laboratorio confirmó que se trata de una especie del mismo género descrito por Martorelli (1991) en *B. monilifer*, y determinada por este autor como perteneciente al género *Opechona*. En el caso de este trematode digeneo, la especificidad por el primer hospedador intermediario ocurriría a nivel genérico, lo que es usual en este grupo de Digenea (Lauckner, 1980).

Para efectuar una determinación taxonómica a nivel específico es preciso dilucidar experimentalmente el ciclo de vida del parásito, obteniendo al estadio adulto. En este ciclo intervienen el caracol como primer hospedador intermediario (alojando las redias que emiten cercarias al medio), un segundo hospedador intermediario (medusas que albergarían metacercarias) y un hospedador definitivo vertebrado que depende sobre el segundo hospedador intermediario (generalmente un pez óseo) (Lauckner 1980; Martorelli, 1991). Adultos del género *Opechona* han sido hallados en la caballa, *Scomber japonicus* (Scombridae) en aguas bonaerenses (Cremonte y Sardella, 1997). Se conoce que cardúmenes de este pez pelágico que se alimenta de medusas, habitan el golfo San José, por lo que constituye un posible hospedador definitivo para el parásito hallado en *B. cochlidium*. A pesar de que es frecuente hallar más de una especie de parásito por gasterópodo hospedador (Køie, 1969; Lauckner, 1980), no se hallaron otras larvas con características distintas a las de las larvas aquí reportadas.

6.4.2 Prevalencia y estacionalidad

La prevalencia de larvas de este trematode en *B. cochlidium* no es extrema, aunque si superior al 1-10% esperable sistemas digeneos-gasterópodos según Fried y Graczyk (1997). Los parásitos afectan en igual proporción a machos y hembras según los resultados de este trabajo, lo que es usual en este tipo de parasitosis (Køie, 1969; Lauckner, 1980). Por otro lado, las tallas medias de los individuos parasitados (tomando ambos sexos en conjunto) fueron significativamente mayores a la de los no parasitados. Estas diferencias, podrían deberse al mayor tiempo de vida de los caracoles más grandes y, por lo tanto, mayor probabilidad de que el parásito ingrese al organismo (Fried y Graczyk, 1997). El parásito produce castración, como en la mayoría de los trematodes digeneos en estadios de reproducción asexual (Lauckner, 1980; Galaktionov y Dobrovolskij, 2003). Por ello resulta difícil saber si la reducción de órganos reproductivos responde al efecto del parasitismo, o si son los gerontes cuyos órganos reproductivos se encuentran reabsorvidos, los que poseen mayor probabilidad de ser parasitados por haber estado expuestos más tiempo. Dado que también se ha observado reducción de las glándulas accesorias en algunas hembras de tallas mayores, es probable que los fenómenos de senilidad y parasitismo sucedan simultáneamente.

El efecto más evidente del parasitismo es, en primer lugar, la castración total de los individuos con alto grado de parasitismo (es decir, con la gónada totalmente invadida por larvas), observado en la gran mayoría de los casos. Aunque no es posible establecer en base a este estudio cual es el mecanismo de castración, es posible que pueda deberse a la ingesta del tejido gonadal por parte de las redias, a la falta de irrigación por la obstrucción de los espacios hemolinfáticos (mecánico), o a una disrupción endócrina reproductiva (químicamente) (Galaktionov y Dobrovolskij, 2003). En cualquier caso, es evidente que los individuos parasitados son en su mayoría completamente estériles, por carecer completamente de tejido gonadal. Ésto constituiría una ventaja para los parásitos que entonces cuentan con el total de la energía del hospedador, que no se reproduce (Fried y Graczyk, 1997). En segundo lugar, se observó una reducción de los órganos reproductivos secundarios en individuos adultos parasitados. En particular, en los machos parasitados de tallas mayores los penes mostraron una tendencia a reducir su tamaño. Debido a ello, se observa en esas tallas una mayor dispersión de los datos de largo de pene, en detrimento del buen ajuste de la función lineal correspondiente. La atrofia de los órganos genitales secundarios es un fenómeno común en este tipo de parasitosis (Ginetsinskaya, 1988). En el caso aquí

reportado, no se observó una reversión sexual a nivel gonadal ni de desarrollo de un pene en hembras parasitadas tal como ha sido reportado para otros sistemas gasterópodo-parásito (Ginetsinskaya, 1988).

No se observó una estacionalidad marcada en la prevalencia de parásitos en general (considerando todos los estadíos). Sin embargo, existe una estacionalidad por estadíos, con mayor frecuencia de estadíos en desarrollo desde junio a noviembre. Las cercarias completamente desarrolladas se encuentran principalmente desde octubre hasta mayo. En este período sucedería la emisión de las mismas. Esta estacionalidad coincide con la máxima evacuación de gametas en hembras y machos de *B. cochlidium* (octubre), y con la época oviposición, desarrollo intracapsular y eclosión de los juveniles. Según Ginetsinskaya (1988) se puede esperar mayor tasa de emisión de cercarias en los meses de mayores temperaturas del agua y un cese de emisión debido a las bajas temperaturas invernales. Debería confirmarse si el período de mayor emisión de cercarias coincide además con la presencia de medusas que actuarían como segundos hospedadores intermediarios (las cercarias con largas colas y setas nadan de forma ascendente en la columna de agua; resultan atractivas presas para estos cnidarios depredadores) y de los peces que constituyan el hospedador definitivo. Queda por definir cuales especies ocupan ambos roles en el ciclo de vida del parásito.

Capítulo V

7 Estructura poblacional y crecimiento

7.1 INTRODUCCIÓN

El estudio poblacional de una especie es una fuente de información diversa que puede utilizarse junto a otros parámetros para establecer pautas de su manejo sustentable, en el caso de que sea un recurso explotado. Entre los parámetros poblacionales se encuentran la abundancia y densidad, así como el crecimiento y la edad individual, entre otros. Este tipo de información es a la vez un marco complementario a los estudios reproductivos, de manera de poder relacionar un estadio reproductivo a una talla individual y, de ser posible, a un parámetro temporal. Varios son los posibles abordajes al estudio de los mismos, entre ellos la utilización de datos poblacionales recolectados (por ejemplo frecuencia de tallas) o la puesta en marcha de una experiencia a campo en tiempo real, en cada caso con distintos esfuerzos y relaciones costo beneficio.

El crecimiento poblacional puede ser calculado sobre la base del crecimiento individual para el tamaño u otra variable (peso por ejemplo) en un período de tiempo dado, en todos los casos es posible ajustarlos a modelos teóricos de crecimiento como el logístico, el de Von Bertalanffy, Gompertz u otros semejantes.

En este capítulo se realiza una aproximación al crecimiento de *Buccinanops cochlidium* en base al estudio de las marcas de crecimiento observadas como engrosamiento de las conchas. Asimismo utiliza una variedad de métodos para evidenciar tales marcas que incluyen rayos X, ultraestructura de la concha, y variación en la proporción de isótopos estables de O^{18} para validar estas marcas. Por otro lado se estudió el crecimiento mediante una experiencia directa de marcado y recaptura, y medición de los incrementos individuales en el tamaño de las conchas en relación a un período de tiempo conocido.

7.2 MATERIALES Y MÉTODOS

7.2.1 Estructura poblacional

La densidad de individuos se obtuvo mediante el muestreo al azar de cuadrantes de 1 m². Para ello se soltaron desde una altura de 2 metros sobre el fondo, separados por una distancia de nado de 5 a 10 patadas, siempre en una misma dirección. En cada cuadrante se contabilizaron y midieron todos los individuos de *Buccinanops cochlidium* encontrados en la superficie o enterrados (visibles como un montículo de sedimento y/o por el sifón negro emergiendo sobre la interfase sedimento-agua). Esta información se complementó con datos de abundancia obtenidos en el curso de la experiencia de marcado y recaptura, la cual se explica a continuación en el apartado correspondiente.

Se estudió la relación entre el LT y LA y, por otra parte, se estudió la relación entre la talla (LT) y el peso húmedo de las partes blandas (P), en ambos casos mediante una regresión lineal. La proporción de peso total y peso del pie da una estimación del rendimiento de esta especie con potencial pesquero, complementable con parámetros como la densidad.

7.2.2 Marcas de crecimiento de la concha

Se observaron las conchas de todos los caracoles muestreados (n= 429) y se determinó para cada individuo si existía una marca de crecimiento en el borde del labio externo de la concha. Se consideraron individuos marcando a todo aquel que poseía un aspecto discontinuo en color y espesor en el borde del labio externo de la concha, es decir si era de color claro y aspecto engrosado. Se expresa la estacionalidad de marcación como la proporción de individuos con conchas marcando por mes. También se contabilizaron en cada concha el número de marcas de crecimiento visibles exteriormente, en machos y hembras.

7.2.3 Ultraestructura de la concha

Se realizaron imágenes de rayos X (RX) en un equipo LADEM/ VETTER Rem-150 con el objeto de buscar marcas de crecimiento internas además de las externas observables generalmente en la última vuelta de las conchas. Los parámetros utilizados

en el equipo de radiografía, con los que se lograron las imágenes más nítidas fueron los siguientes: amperaje= 50 mA, voltaje= 30 KVolt, y tiempo= 0,06 segundos.

Complementariamente se estudió la ultraestructura de la concha en el MEB. Para ellos se quebró una fracción de la región marginal (borde externo de la abertura) perpendicularmente al crecimiento de la misma. De esa manera se atravesó al menos una línea de crecimiento (visibles externamente). La pieza se embebió en resina, se desgastó con papel de lija de grano decreciente (120, 220, 320, 600 y 1000). Posteriormente se utilizó un paño de gamuza con alúmina para el pulido definitivo. Para exponer la estructura cristalina se trató la pieza con ácido clorhídrico 0,1 N durante 1,5 minutos (Urteaga y Pastorino, 2007) y se enjuagó en etanol 96%. Finalmente se montaron las piezas y se metalizaron para ser observadas en el MEB (según se detalló en la metodología general).

7.2.4 Cuantificación de isótopos estables de O^{18}

Se tomaron muestras de aproximadamente 100 μg CaCO_3 a lo largo la zona media del anfracto de la concha de un individuo, desde el ápice a la última vuelta en la dirección de crecimiento, cada 1 a 3 mm. Previamente se lijó toda la superficie de la concha a muestrear con una lija de grano fino, posteriormente se colectaron las muestras por desgaste con un taladro Dremel serie 300 (tipo odontológico).

Se determinó la proporción de isótopos de O^{16}/O^{18} en cada muestra. Para ello se utilizó un espectrómetro de masa acoplado a un aparato de preparación automática de carbonatos (realizado en el Alfred Wegener Institute-Alemania). Los resultados fueron reportados en notación- δ vs estándar V-PDB (Viena Pee Dee Belemnite); el error analítico fue de 0.1%.

La relación de los isótopos estables de oxígeno (O^{18}) presentes en el CaCO_3 biogénico es inversamente proporcional a la temperatura del agua en el momento en que éste es depositado (Brey, 1999; Cespuglio *et al.*, 1999). Esta relación es casi lineal entre 5° y 30° C (Epstein y Lowesant, 1953).

La concentración de isótopos es expresada en función de la talla (LT) correspondiente a cada muestra. Cada pico corresponde a un mínimo de temperatura, por

lo tanto a un final de invierno vivido por el individuo. Esta variación estacional permite asociar el crecimiento de la concha y las marcas externas visibles a las estaciones del año.

7.2.5 Marcado y recaptura

Para la experiencia de marcado se realizó una búsqueda exhaustiva de los distintos métodos existentes y se eligió esmalte para uñas, basado en su buena efectividad a corto y mediano plazo, el hecho que no afecta a los individuos, su bajo costo y fácil aplicación (Henry y Jarne, 2007). Se realizaron dos eventos de marcado, en marzo de 2006 con esmalte rojo y en diciembre del mismo año con esmalte blanco (Avon®). En cada oportunidad se realizó un esfuerzo máximo de captura constando de 3 a 4 buzos, cada uno con un tanque de aire comprimido con un volumen de 12 litros, que resultó en capturas de 261 y 300 ejemplares, respectivamente. Se secaron y lijaron suavemente la superficie de las conchas de los individuos capturados. Luego se aplicó el esmalte sobre el borde de la concha de los caracoles, donde se deposita el CaCO_3 , desde la sutura de la última vuelta hasta el canal sifonal (incluyendo la punta de la columela). De esta manera al recapturarlos se obtiene la talla inicial (marca de esmalte) y final (máxima alcanzada), tanto LT como LA. La metodología de marcado fue previamente puesta a prueba en acuarios acondicionados sin observarse muertes ni pérdidas de las marcas aplicadas durante un período de 1 año.

Se planificaron sucesos de recaptura aproximadamente cada 2 meses, siempre que fue posible. En cada muestreo se recolectaron aproximadamente 300 caracoles (un esfuerzo de muestreo similar al de la captura). Se registró el número total capturado, y se guardaron para su estudio posterior sólo aquellos ejemplares recapturados pintados con esmalte. Se midió el incremento en LT y en LA de la concha para cada individuo, como la diferencia entre la talla máxima al momento de la recaptura (l_2) y la marca de esmalte (l_1). Además los individuos fueron sexados como fue descrito anteriormente.

La relación entre la tasa de crecimiento, calculada como $(l_2 - l_1)/\Delta t$, y la talla media, entendida como $(l_1 + l_2)/2$ se conoce como gráfico de Gulland y Holt, y permite un análisis cualitativo de los datos obtenidos. Los datos de incrementos en función del tiempo transcurrido fueron ajustados a la forma funcional del modelo de von Bertalanffy (VB) según:

$l_t = l_\infty (1 - e^{-k(t-t_0)})$, que representa la talla en un momento dado (por ejemplo, a la captura). Transcurrido un período de tiempo la ecuación es:

$$l_{t+\Delta t} = l_\infty (1 - e^{-k(t+\Delta t-t_0)}),$$

cuya transformación para incrementos de talla en tiempo resulta

$$l_{t+\Delta t} - l_t = (l_\infty - l_t) \cdot (1 - e^{-k\Delta t}) \text{ o lo que es similar } l_{t+\Delta t} = l_\infty (1 - e^{-k\Delta t}) + l_t e^{-k\Delta t},$$

donde Δt es el intervalo de tiempo entre el marcado y la recaptura, l_∞ es el largo asintótico teórico de la población, l_t es el largo en el momento de la captura inicial (marcado con esmalte) y $l_{t+\Delta t}$ es el largo a la recaptura; k es el coeficiente de crecimiento de Brody (Quinn y Deriso, 1999).

Los datos de la experiencia realizada en el campo se ajustaron a este modelo bajo el criterio de verosimilitud (función: $V(\theta)$) mediante minimización de la suma de cuadrados; cuyo cociente de verosimilitud $-2 \ln \left[\frac{V(\theta)}{V(\hat{\theta})} \right]$ se distribuye como χ^2 .

Se compararon estadísticamente los parámetros de crecimiento (l_∞ y k) de hembras y machos. Se expresaron los incrementos en función de la talla promedio (entre el marcado y la recaptura) en conjunto con la recta para los modelos de VB (l_∞ y k), en machos y hembras. A partir de ambos parámetros se estimó la “performance” o desempeño (D) de crecimiento, comparable con el de otras especies. Además se expresaron los incrementos en función de la fecha promedio (entre el marcado y la recaptura) con el fin de interpretar una potencial estacionalidad de crecimiento en esta población. Se utilizó el análisis de los residuales, bajo el supuesto de varianza constante, que permite identificar posibles parametrizaciones para estructuras de error más complejas (Neter *et al.*, 1996).

El tamaño de la población fue estimado mediante el método de marcado y recaptura. Para ello se utilizó el estimador de Petersen, que se obtiene al igualar la

proporción de individuos marcados en la población a la proporción de individuos recapturados (marcados) en una segunda captura (Schwarz y Seber, 1999), es decir:

$$N = n_1 \cdot m / n_2,$$

donde N es el tamaño de la población, n_1 el número total de individuos marcados con esmalte (1^{er} captura), m el número de caracoles recolectados (recaptura) y n_2 el número de individuos marcados recapturados. Se presupone que en la población estudiada no existen migraciones ni mortandades masivas (por explotación pesquera, contaminación, etc.) durante el período que duró la experiencia. Se utilizaron los muestreos inmediatamente posteriores a ambos sucesos de marcado, de manera de minimizar las pérdidas de marcas y de individuos marcados por mortandad o migración de los ejemplares liberados.

7.3 RESULTADOS

7.3.1 Estructura poblacional

La densidad total de caracoles expresada en individuos/m² fue de 1,095, aunque si se considera sólo los ejemplares de tallas mayores a 20 mm fue de 0,41 individuos/m² (n= 42 cuadrantes). El 57% de los cuadrantes se hallaban sin ningún caracol de esta especie; en 11 de ellos se encontraba un único ejemplar de entre 20 y 94 mm. En los restantes cuadrantes se hallaron 2 (adultos o un adulto y un juvenil) a 11 (juveniles inferiores a 10 mm) individuos. En estos últimos casos, en general asociados a algún evento de alimentación grupal.

Las conchas de los individuos analizados muestran diferencias significativas (ver capítulo III) de tallas entre machos y hembras, como se evidencia en la Tabla 7.1.

Tabla 7.1. Comparación de talla (LT) de machos y hembras.

	LT de machos (mm)	LT de hembras (mm)
Media	73,1	87,3
Error típico	1,3	1,4
Mediana	78,8	91,2
Moda	80,0	91,0
Máximo	94,0	108,0
n	164	145

El largo de la sutura (LS) es otra medida útil para el estudio del crecimiento de las conchas de gasterópodos, por ejemplo en el cálculo del LT correspondiente a cada muestra de isótopos de la concha en el estudio de crecimiento. La relación entre las variables LT y LA para *B. cochlidium* es explicada por una función lineal ($p < 0,01$; $n = 332$) mostrada en la Figura 7.1.

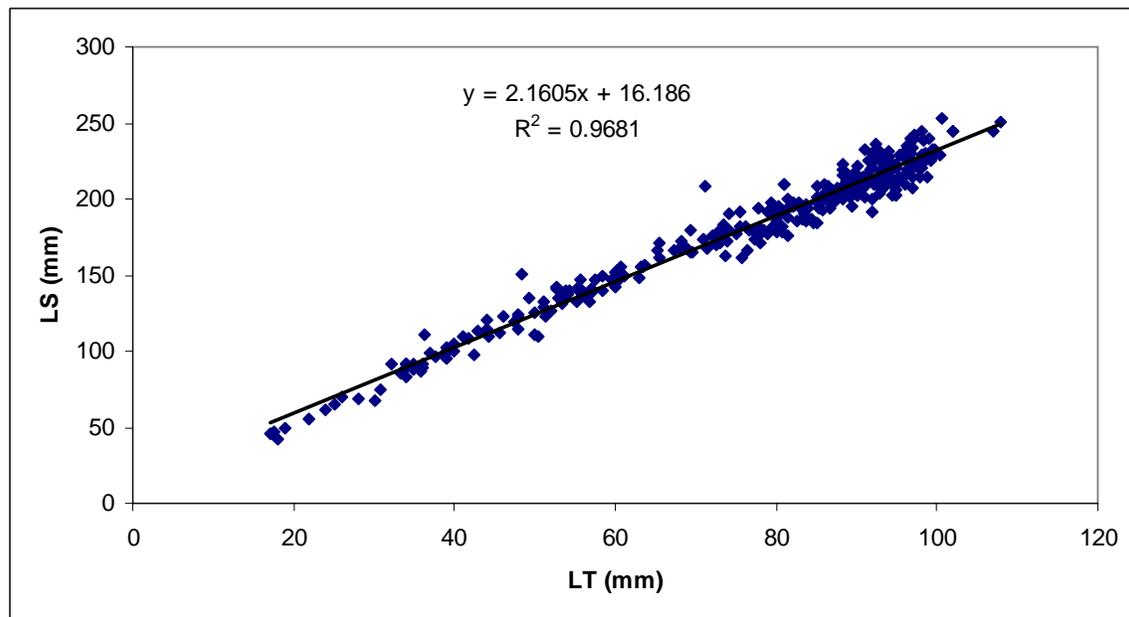


Figura 7.1. Relación entre el largo de la sutura (LS) vs largo total (LT).

Las tallas de los individuos recolectados variaron entre 17 y 108 mm de LT, y entre 0,2 y 129,4 g de PT. La relación entre esas variable puede ser expresada linealmente si se aplica el ln a cada una ($p < 0,01$; $n = 332$), según se observa en la Figura 7.2.

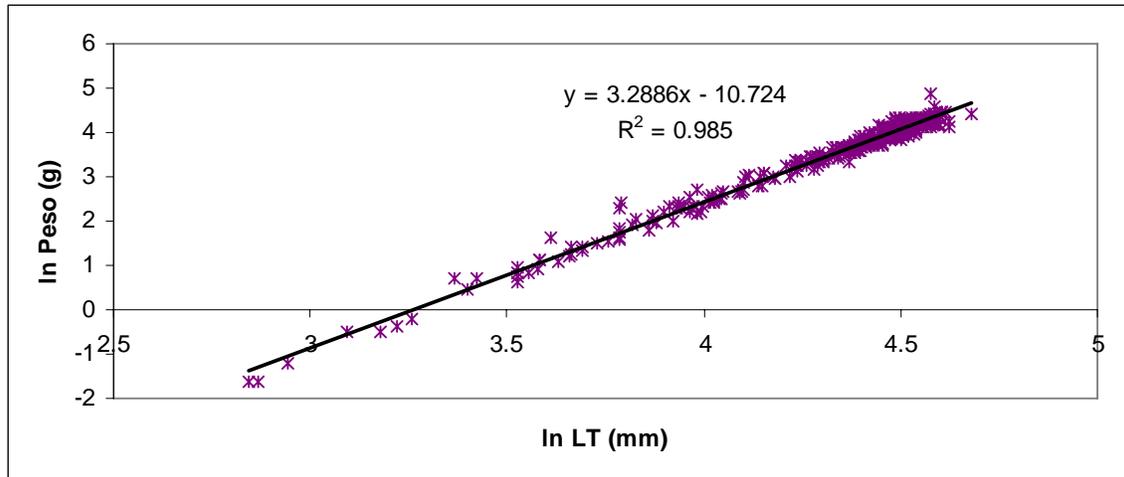


Figura 7.2. Peso (P) vs. Largo total (LT) de los individuos (escala logarítmica).

En esta especie el peso total mostró una media de 58,6 g y un valor máximo de 129,4 g (n=102). El peso medio de las partes blandas es de 39,5 g, con un máximo de 75 g (n=101). El rendimiento basado en la relación entre el peso total y el peso de la parte comercial (pie), se calculó a partir de una submuestra. En promedio, el 37% (rango= 30 - 48,1%) del peso del cuerpo corresponde al pie. La variación encontrada no se relaciona con la talla de los individuos ($r^2 = 0,097$; $p > 0,05$; $n = 20$). Estos resultados se resumen en la Tabla 7.2.

Tabla 7.2. Rendimiento. Proporción de peso de las partes blandas (P. blando) y del pie, respecto del total. Todos los pesos se expresan en gramos.

	Peso total	Peso blando	Peso pie	Rendimiento pie (%)
Media	58,6	39,5	28,7	37,8
Desvío estándar	21,8	15,4	7,8	5,1
Mínimo	7,7	4,3	18,7	30
Máximo	129,4	75	47,2	48,1
n	102	101	20	20

7.3.2 Marcas de crecimiento de la concha

Se observaron marcas en el borde del labio externo de la concha entre junio y noviembre (Fig. 7.3). Este período corresponde a temperaturas inferiores a 13 °C según los registros tomados *in situ* y datos satelitales (Fig. 7.4).

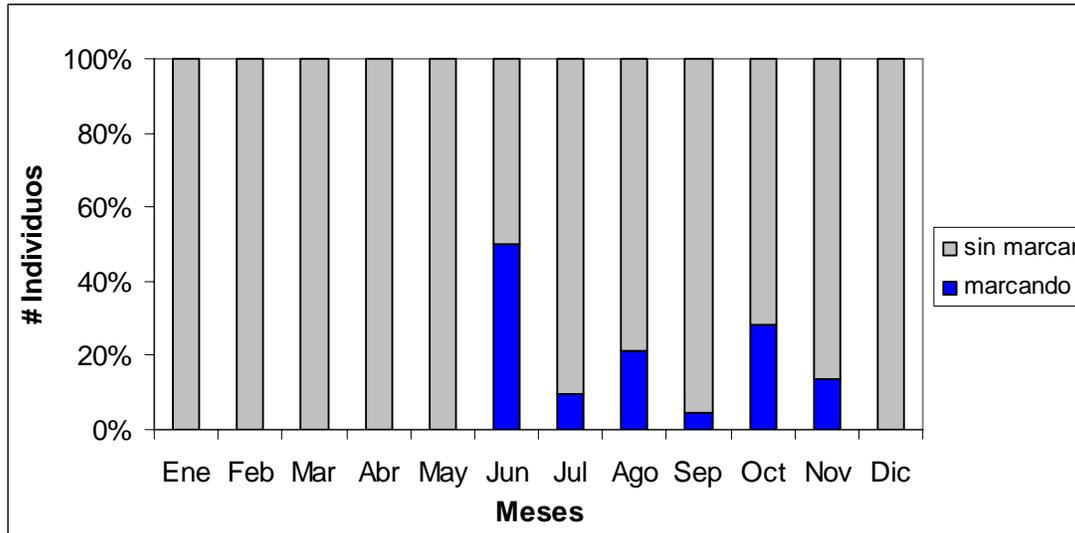


Figura 7.3. Estacionalidad de aparición de marcas de crecimiento (en azul la proporción de individuos marcando al ser capturados); período 2005-2006.

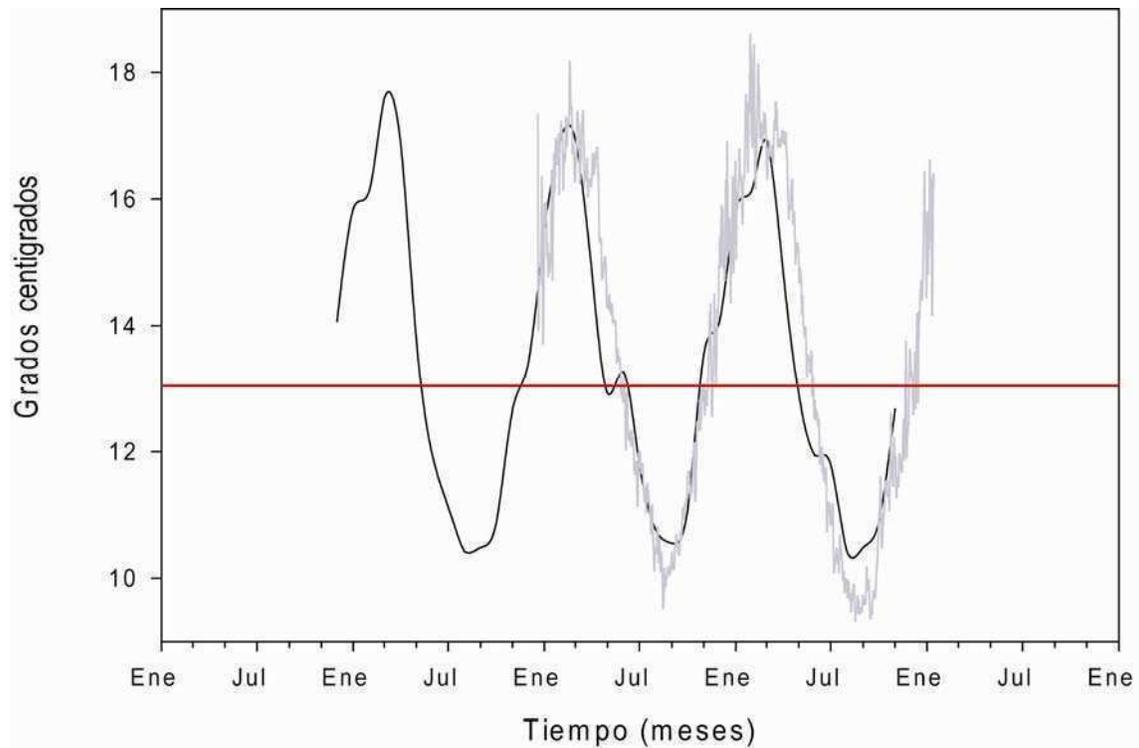


Figura 7.4. Temperatura asociada a la estacionalidad de aparición de marcas (la línea roja marca el límite de los 13 °C).

El número total de marcas de crecimiento visibles externamente en las conchas de los individuos estudiados aumenta en relación a su talla. En la clase de talla mayor la moda es de 3 marcas, tanto en machos como en hembras. Al observar el número máximo de marcas asciende a 4 en machos mayores a 80 mm, y 9 en hembras de hasta 100 mm (Figs. 7.5). En algunos casos las marcas no son fácilmente identificables externamente.

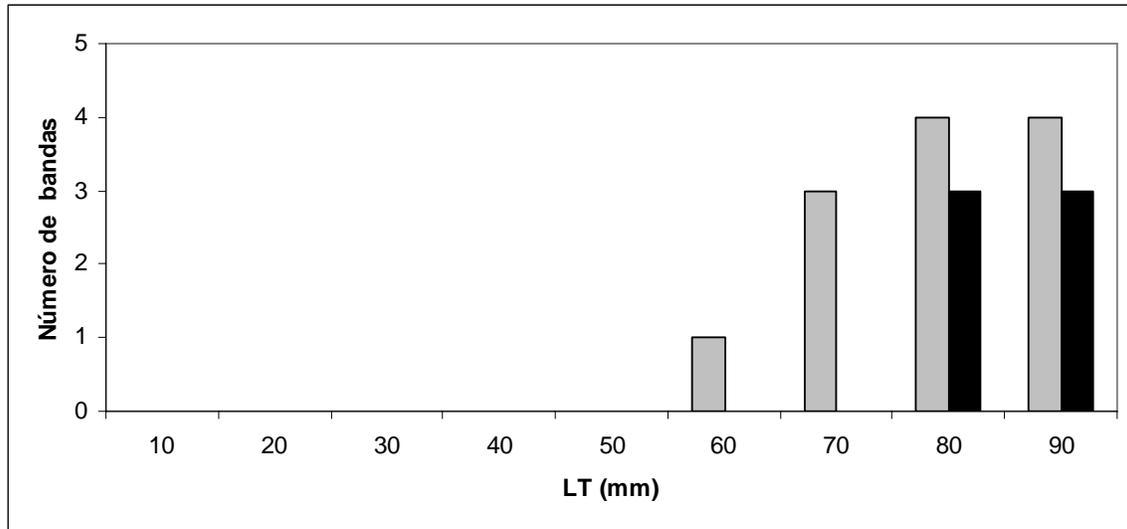


Figura 7.5.a Número de marcas de crecimiento en machos por clase de talla. Moda (negro) y máximo (gris).

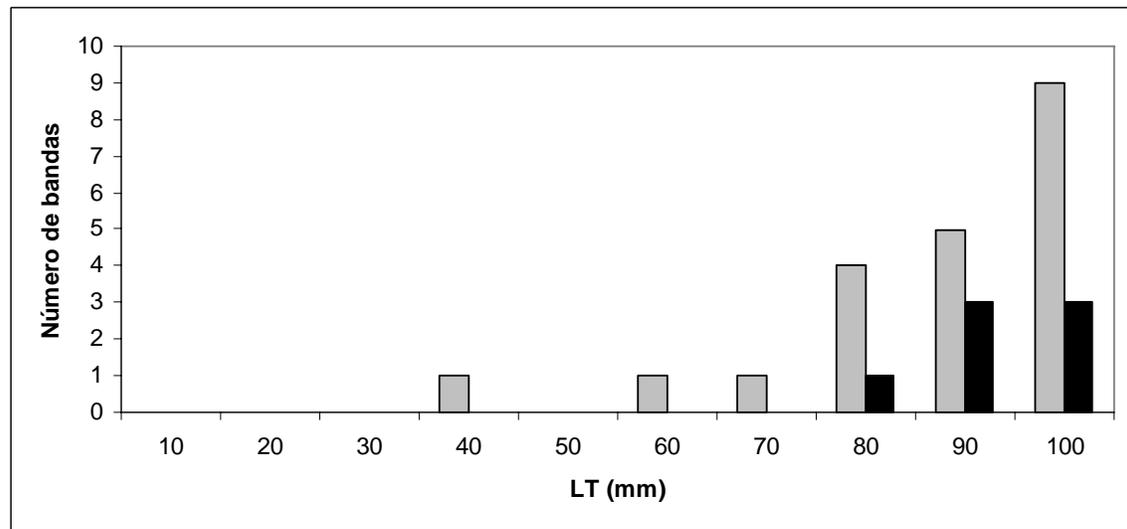


Figura 7.5.b. Número de marcas de crecimiento en hembras por clase de talla. Moda (negro) y máximo (gris).

En la Figura 7.6 se muestra un individuo pintado con esmalte rojo para la experiencia de marcado y recaptura (ver más adelante 7.3.5). Las flechas blancas indican la presencia de marcas de crecimiento. Se observa la aparición de una última marca (marginal) en el momento de la captura.



Figura 7.6. Caracol recapturado colocado en el acuario antes de ser procesado. Flechas blancas: marcas de crecimiento; flecha roja: marcado con pintura. Escala: 1 cm.

7.3.3 Ultraestructura de la concha

En las imágenes obtenidas por radiografía (RX) se observan las marcas de crecimiento marginales ubicadas en la última vuelta de la concha, visibles externamente en los individuos más grandes (Fig. 7.7). No se observaron con esta técnica otras marcas de carácter interno, que no fueran visibles externa y macroscópicamente (n= 20).

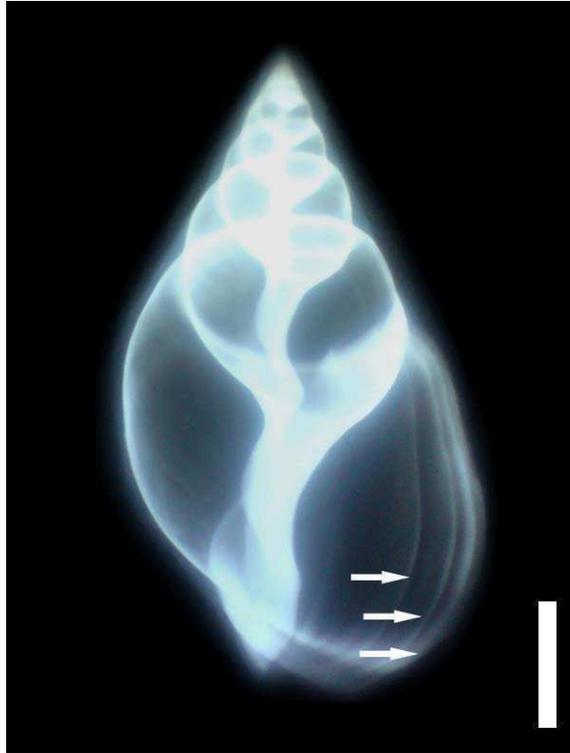


Figura 7.7. Imagen de rayos X de la concha de una hembra adulta. Se observan las marcas de crecimiento en la última vuelta de crecimiento (flechas) una de ellas marginal. Escala (A) = 2 cm.

La estructura interna de la concha presenta tres capas fácilmente diferenciables bajo el MEB (Fig. 7.8. A). La más interna formada por un arreglo entrecruzado (probablemente cristalino), la intermedia posee un arreglo perpendicular y la más externa es aparentemente amorfa (Fig. 7.8. C-E). En la zona donde se observa una marca de crecimiento externa (y por RX) el sentido en que el CaCO_3 se deposita se curva hacia el exterior, retomando luego el sentido normal (Fig. 7.8. B).

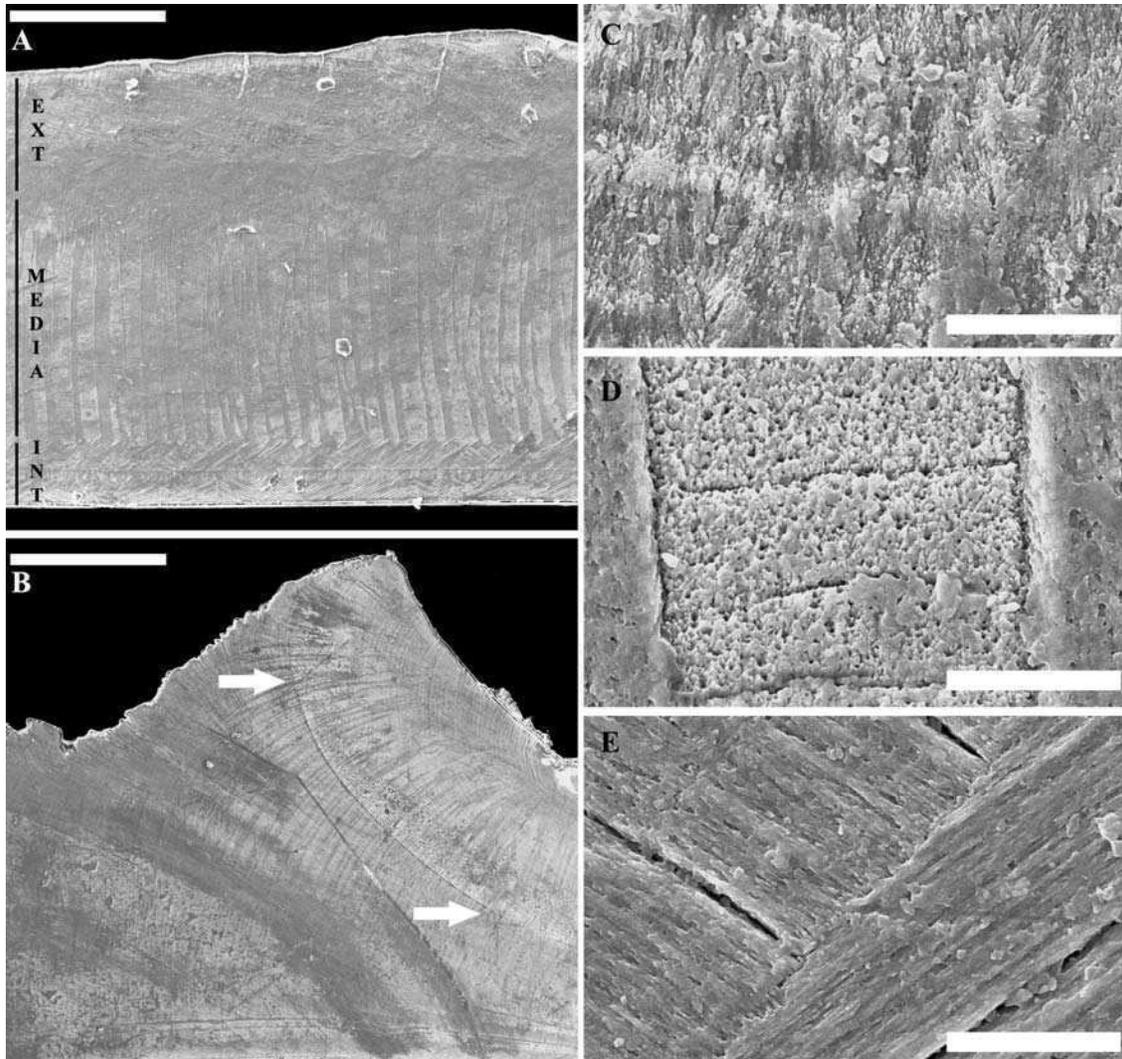


Figura 7.8. Ultraestructura de la concha en el MEB. A- Aspecto general de la concha en vista perpendicular al sentido de crecimiento; B- Zona de una banda de crecimiento. Las flechas indican la curvatura en el sentido del depósito; C- Detalle capa externa, amorfa; D- Detalle capa media, se observan un arreglo perpendicular; E- Detalle capa interna, de arreglo entrecruzado. Escalas: (A) = 200 μm , (B) = 500 μm , (C-D) = 10 μm .

7.3.4 Cuantificación de isótopos estables de O^{18}

Se analizó un individuo macho de 55 mm de LT. En la Figura 7.9 se muestra la relación entre la concentración de O^{18} y la talla; con picos (mínima temperatura) y valles (máxima temperatura). Las tallas a las que la concha muestra picos de O^{18} coinciden con los inviernos vividos (3). Los primeros valores coinciden con temperaturas máximas, posteriores a la eclosión. No se observaron marcas en la concha correspondientes a los

mínimos de temperatura de los 20 y 35 mm; pero sí un leve engrosamiento en el borde de la concha (55 mm).

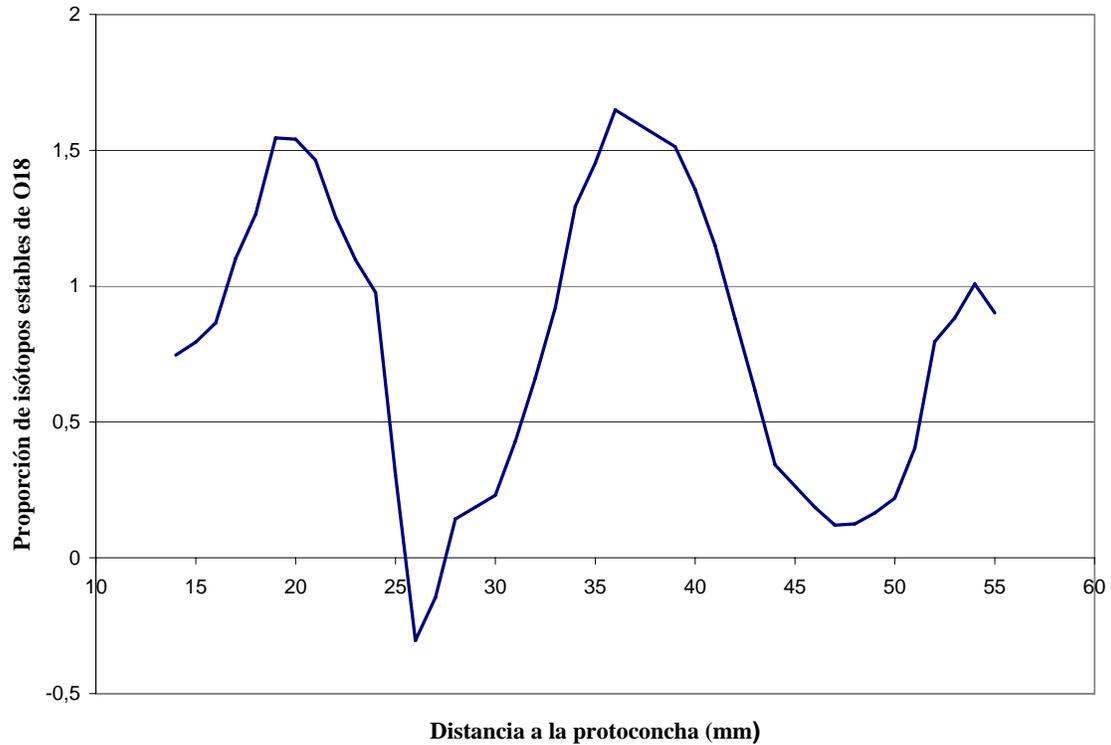


Figura 7.9. Proporción de isótopos de O¹⁸ a lo largo de la concha de un macho de 55 mm.

7.3.5 Marcado y recaptura

Los caracoles marcados con esmalte se observaron en el campo realizando actividades normalmente; es decir enterrados, desplazándose, alimentándose, copulando y/o portando ovicápsulas.

La proporción de sexos de la población marcada recapturada no difirió de 1:1 ($g=47$; $\chi^2=0,5$; $p>0,05$), con 23 hembras y 25 machos. Se capturaron y marcaron 261 (esmalte rojo) y 300 (esmalte blanco) individuos respectivamente en cada uno de los dos eventos. El total de 48 individuos recapturados en los distintos sucesos representa un 8,56% del total de los individuos marcados ($n=561$). Sólo un individuo fue recapturado en más de una oportunidad (2), en diciembre de 2006 y mayo de 2007. El número de individuos recapturados (de cada color) por mes se muestran en la Tabla 7.3.

Tabla 7.3. Número de individuos marcados recapturados y totales (en cada suceso). En rojo y azul se muestran los valores a partir de los cuales se estimó el tamaño poblacional luego de cada evento de marcado.

Fecha de muestreo	Rojo (09-Mar-06)	Blanco (07-Dic-06)	# individuos recolectados
09-Mar-06	-	-	261
25-Jul-06	6	-	300
24-Ago-06	1	-	343
07-Dic-06	2	-	300
26-Ene-07	5	8	393
26-Mar-07	7	6	300
24-May-07	1	4	315
30-Jun-07	0	1/0	311
03-Sep-07	1	1	300
29-Oct-07	0	2	300
03-Ene-08	1	0	195
17-Abr-08	2	1	300
TOTAL	26	22	3318

A pesar de poseer este alto porcentaje de recaptura, los datos obtenidos en esta experiencia tienen un sesgo negativo en el marcado y consecuentemente en la recaptura de las tallas menores, de hábito críptico. Las hembras marcadas midieron entre 50,9 y 103,2 mm s, y entre 59,7 y 103,2 mm al ser recapturadas. Los machos marcados midieron entre 63,4 y 87,2 mm, y entre 64,8 y 89,0 mm al ser recapturados. En la Figura 7.10 se muestran las medidas de incremento en un individuo recapturado, a modo de ejemplo.

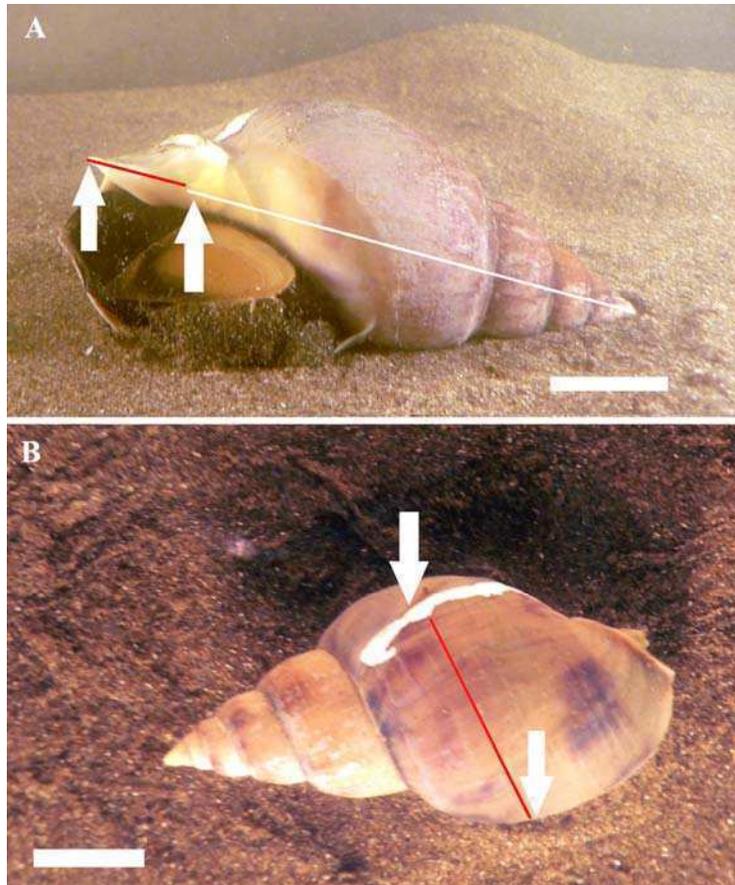


Figura 7.10. Incrementos al momento de la recaptura. A-Vista abertural, se observa el LT al marcado (blanco) y a el incremento a la recaptura (rojo); B-Vista dorsal, en rojo el incremento en LA. Escalas: (A-B) = 2 cm.

Los incrementos en las tallas al momento de la recaptura, expresadas como LT o LA, mostraron una acentuada variabilidad. Los mayores incrementos correspondieron siempre a los individuos con tallas inferiores. El máximo crecimiento en un macho se registró en un ejemplar de 68,7mm y fue de 4,4 mm en 48 días ($0,091 \text{ día}^{-1}$ o su equivalente a $33,46 \text{ año}^{-1}$ suponiendo crecimiento constante durante todo el año) y en una hembra de 69,8 mm fue de 10,2 mm ($0,095 \text{ día}^{-1}$ o $34,79 \text{ año}^{-1}$) (Fig 7.11).

Cuando se consideraron los datos de machos y hembras en conjunto, el ajuste al modelo de von Bertalanffy (VB) (variante simple: mismo L_{∞} y k) fue significativamente menor que en el modelo para machos y hembras por separado (variante completa). Cuando se mantiene constante el L_{∞} el ajuste también es significativamente menor, en

cambio al mantener constante el parámetro k no hay diferencias significativas con el modelo completo (Tabla 5.4).

Tabla 5.4. Comparación de ajuste del modelo de VB y sus variantes.

Modelo	SSQ	$\ln(V)$	$-2\ln(V_0/V)$	Valor-P	Signific.
Completo	196,418256	-32,8230909			
Simple	266,234746	-40,4698843	14,5983397	0,00067	**
Igual k	196,595083	-32,8482464	0,04319294	0,8353624	<i>ns</i>
Igual L_∞	236,810092	-36,500981	8,97658447	0,00273461	**

Los valores de L_∞ y k obtenidos mediante ajuste de los datos al modelo de VB (variante de igual k) fueron: 88,115 y 0,627 en machos y 96,298 y 0,668 en hembras.

En la Figura 7.11 se muestran junto a los valores de incrementos las líneas correspondiente a lo parámetros obtenidos para machos y hembras, y el del modelo simple (mismo k y L_∞).

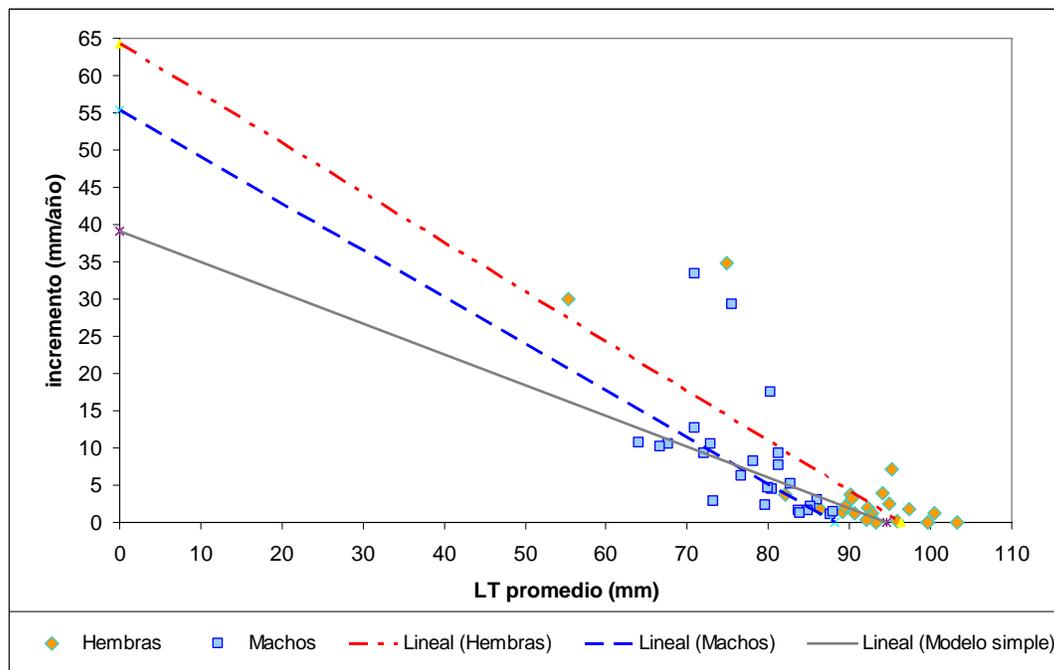


Figura 7.11. Marcado y recaptura. Los puntos corresponden al incremento anual promedio, (machos y hembras) en función de la talla media (entre la captura y la recaptura). Las rectas representan las funciones de von Bertalanffy simple, y para machos y hembras por separado.

Los valores de crecimiento anual, considerando crecimiento constante (sin estacionalidad), variaron entre 0 y 33,46 mm. Todos los valores superiores a 10 mm/año correspondieron a individuos de tallas menores a 70 mm (al momento del marcado), capturados y recapturados entre noviembre y mayo. Todos los individuos de ese rango de tallas que mostraron tasas de crecimiento inferiores, fueron marcados y también recapturados entre otoño e invierno. En este período el crecimiento es casi imperceptible y los caracoles depositan naturalmente una marca en la concha. En la Figura 7.12 se observan los incrementos de cada individuo en función de la fecha media (entre la captura y la recaptura).

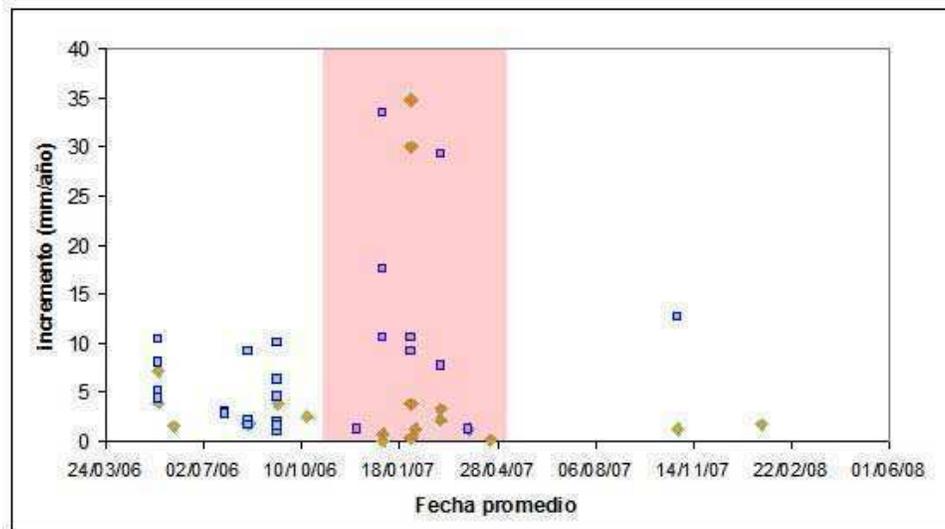


Figura 7.12. Estacionalidad de crecimiento por el método de marcado y recaptura; sombreado en rojo se resalta el período de mayor crecimiento (diciembre-mayo). Cuadrados azules: machos; Rombos rojos: hembras.

La Figura 7.13 corresponde a la grilla auximétrica donde se comparan los parámetros de desempeño (D) obtenidos con los de otras especies de gasterópodos comerciales.

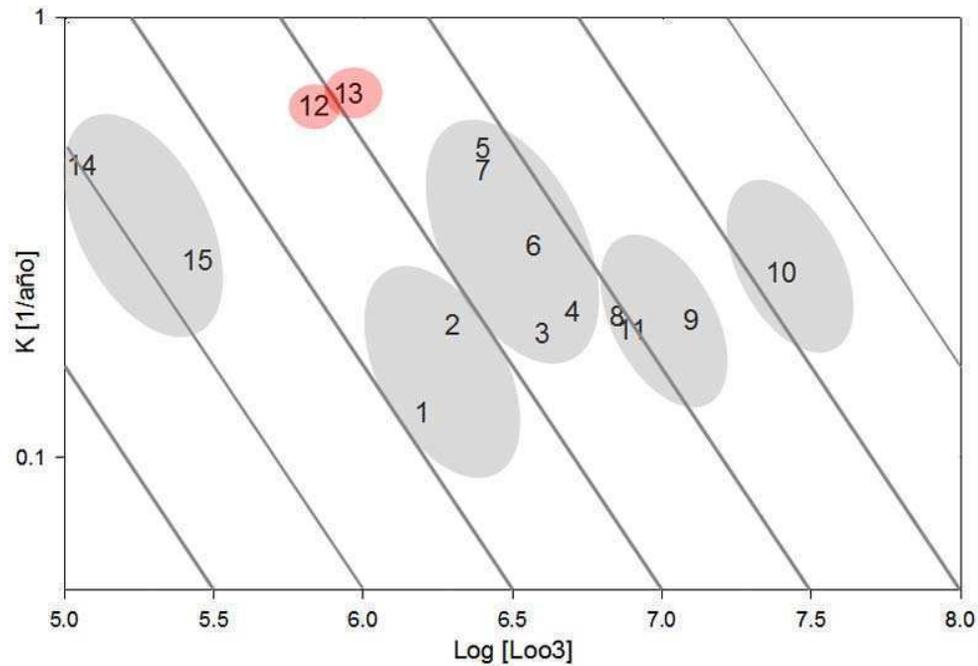


Figura 7.13. Grilla auximétrica comparando el desempeño de crecimiento (D). 1-2: *Buccinum undatum* (Santarelli y Gros, 1985; Kideys, 1996); 3-5: *Concholepas concholepas* (Rodríguez *et al.*, 2001); 6: *Haliotis laevigata* (Shepherd y Hearn 1983); 7: *H. rubra* (Shepherd y Hearn, 1983); 8: *Adelomelon brasiliana* (Cledon *et al.*, 2005b); 9: *Zidona dufresnei* (Giménez *et al.*, 2004); 10: *Strombus gigas* (Navarrete, 2001); 11: *Odontocymbiola magellanica* (Bigatti, 2005); 12-13: machos y hembras de *Buccinanops cochlidium* (en rojo; este estudio); 14-15: machos y hembras de *B. globulosus* (Narvarte, 2006).

Las Figuras 7.14. A y B muestran los residuales de este análisis en función del incremento predicho. Se puede observar que no existe un patrón o tendencia determinada, sino que la dispersión de los residuales es homogénea para toda medida de incremento. Tampoco se observa un desvío (negativo o positivo) de los residuales en ningún rango de talla en particular, a pesar de tener un déficit en las tallas menores, ni un cruce de valores residuales (de negativos a positivos, generalmente).

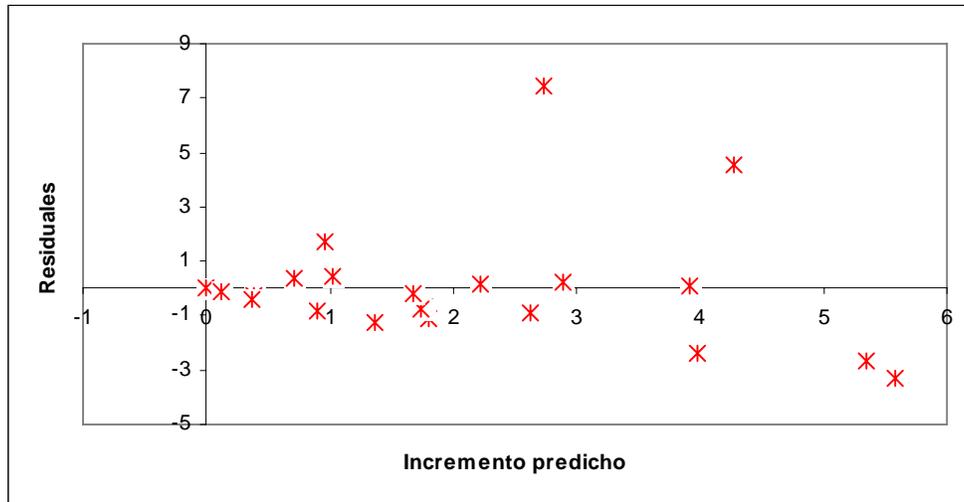


Figura 7.14. A. Residuales del modelo en función de los incrementos predichos (hembras).

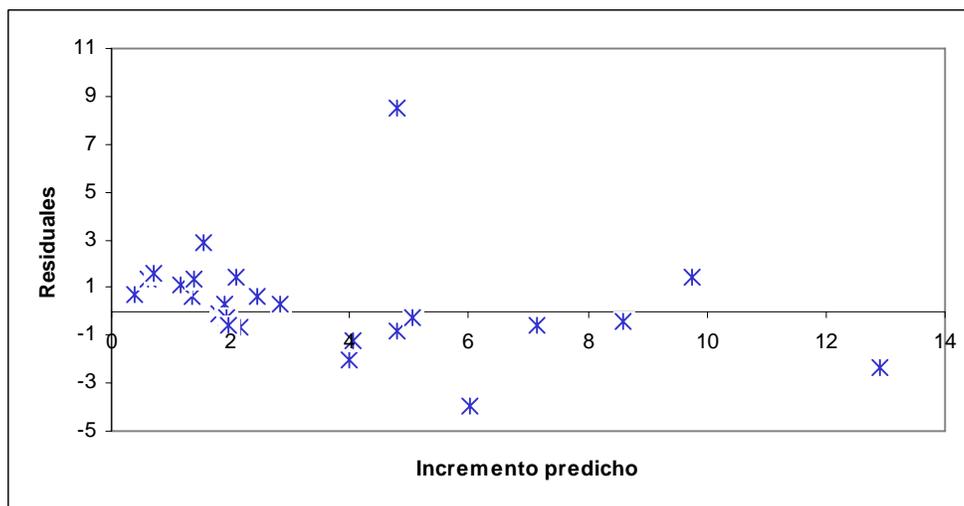


Figura 7.14. B. Residuales del modelo en función de los incrementos predichos (machos).

Los porcentajes de recaptura en los meses inmediatos siguientes al marcado fueron los más elevados; en julio de 2006 un 2,30% ($n= 261$), y en enero de 2007 un 2,66% ($n=561$). En base a las proporciones de individuos recapturados en esos meses (con marcas rojas o blancas) y al número total de marcados (de cada color), la estimación de Petersen del tamaño poblacional oscila entre 13.050 (marzo - julio 2006) y 14.737 individuos (diciembre 2006 - enero 2007), en el área de muestreo en playa Villarino. En la Tabla 7.3 se mostraron, en rojo y azul, los datos utilizados para la estimación en cada

caso respectivamente. El área donde transcurrieron la mayor parte de los muestreos es aproximadamente equivalente a 31500 m² (una circunferencia de 100 m de radio).

7.4 DISCUSIÓN

7.4.1 Estructura poblacional

La población estudiada presenta una densidad media de 0,41 individuos adultos por m². Generalmente se los encuentra agrupados cuando se alimentan, o en cópulas (pareados), dependiendo de la época del año. La densidad aumenta al considerar los juveniles, que son difíciles de encontrar en los muestreos dado que pasan desapercibidos, ya que presentan un hábito críptico, quedando totalmente enterrados en el sedimento.

Tanto el LT como el LA se relacionan linealmente. Las tallas de los machos son significativamente menores que las de las hembras. A su vez, la talla (LT) está exponencialmente relacionado con el peso, por lo que es en las tallas mayores en las que el peso total y el peso del pie (comercial) es máximo. El porcentaje aprovechable de las partes blandas (pie) entre 30 y 48% implica entre 19 y 47 g de carne comercializable por individuo. Estos valores son inferiores a los registrados en el trabajo de Bigatti y Ciocco (2008) para *Zidona dufresnei* de 60%, *Odontocymbiola magellanica* de 45%, y de 40% en *Adelomelon ancilla*.

7.4.2 Marcas de crecimiento de la concha

Las marcas de crecimiento externas corresponden a deposiciones diferenciales de CaCO₃, que suceden en las conchas de *Buccinanops cochlidium*. Las mismas ocurren únicamente entre junio y noviembre cuando las temperaturas son inferiores a 13 °C (en promedio), por lo que se puede aseverar que cada marca corresponde a un año de edad. Aunque este parámetro no puede ser tomado en cuenta para calcular la edad de los individuos, ya que no siempre las marcas son visibles externamente. En los períodos de menor temperatura el CaCO₃ se deposita en un pequeño y restringido espacio de longitud de la concha, por lo que el mayor crecimiento sucede entre diciembre y mayo. Las primeras marcas se observan generalmente a partir de los 60 mm de LT. El número de marcas encontradas en las conchas es raramente mayor a 4 en machos y 5 en hembras,

aunque en una oportunidad se observó una hembra con 9 marcas. En un trabajo realizado en poblaciones de *Buccinanops globulosus* de golfo San Matías Narvarte (2006) observaron 6 a 7 marcas en los opérculos de machos y hembras. La mayor cantidad de marcas marginales en esas estructuras se encontraron entre mayo y octubre, de manera similar a lo observado en las conchas de *B. cochlidium*. La lectura de los opérculos en *B. cochlidium* resultó confusa por lo que se decidió no contemplarla en este estudio. La especie *A. brasiliana* de Mar del Plata, presente una marca anual que fue validada por el método de isótopos estables (Cledón *et al.*, 2008). En cambio, *O. magellanica* que cohabita con *B. cochlidium* en los golfos norpatagónicos, deposita dos marcas al año cuando la temperatura es máxima y mínima (Bigatti *et al.*, 2007)

7.4.3 Ultraestructura de la concha

La estructura interna de la concha incluye 3 capas, como en muchas otras especies de Caenogastropoda. La más externa se asemeja estructuralmente a la aragonita, amorfa, como fue observado en algunas especies de *Trophon* (Pastorino, 2005). Esta capa puede faltar en algunas especies, e incluso puede estar presente o no en distintas poblaciones de una misma especie, como sucede en *Odontocymbiola magellanica* (Bigatti, 2005). Las otras dos capas presentan una estructura que se asemeja a cristales de calcita. En los cortes realizados se observan estructuras con arreglos perpendiculares, en la capa media que es la más ancha, y entrecruzados en la capa interna y la más fina de las tres.

Los cortes realizados en este trabajo no son comparables con otros realizados por otros autores, como aquellos publicados por Pastorino (2005) en el género *Trophon* o en *O. magellanica* por Bigatti (2005), debido a que ambos realizaron los cortes en sentido paralelo al depósito del CaCO_3 . Probablemente las 3 capas en *B. cochlidium* se correspondan con las de las especies estudiadas por esos autores; para confirmarlo es necesario repetir la técnica utilizada aquí en un corte paralelo al sentido de crecimiento.

Además de las marcas de crecimiento observadas externamente, no se observaron otras marcas por radiografía de rayos X. En la marca de crecimiento el CaCO_3 se deposita de manera que se curva hacia el exterior engrosándose. El sentido de depósito del calcio es recuperado cuando la temperatura del agua aumenta y el crecimiento es continúa en sentido espiral.

7.4.4 Cuantificación de isótopos estables de O^{18}

La medición de los isótopos de O^{18} permite constatar la estacionalidad en la aparición de las marcas de crecimiento, variaciones de temperatura ambiente durante el período de vida del individuo (Kideys, 1996; Richardson *et al.*, 2005b). En este caso sólo son visibles las marcas gruesas que se forman en la última vuelta en los individuos de mayor tamaño, tanto externamente como por RX. La concha analizada era mediana, y en ella se pueden observar 3 períodos de verano (mayor crecimiento) y 3 inviernos correspondientes a los valles. Se esperarían 3 marcas (una terminal) si las mismas fueran anuales, sin embargo se podía interpretar sólo una única en el borde de la concha. De confirmarse que es una regla que los primeros 2 años no se generan marcas o éstas no son visibles externamente, los individuos con 4 ó 5 marcas visibles habrían vivido 6 ó 7 años (respectivamente); en los casos extremos con 9 marcas, los individuos vivirían hasta 11 años. Esta edad es menor a la de otros gasterópodos de la zona como *Odontocymbiola magellanica* del golfo Nuevo, que tiene una edad estimada cercana a 20 años (Bigatti *et al.*, 2007), o *Zidona dufresnei* (Giménez *et al.*, 2004) de las costas de Mar del Plata, ambos volútidos. Estos se encuentran dentro de las mayores edades registradas para gasterópodos (Bigatti, 2005). Otras especies emparentadas con *B. cochlidium*, como *Buccinum undatum* viven un máximo de 12 años según Gendron (1992), en aguas templado frías.

Es preciso para confirmar estos resultados realizar nuevos estudios isotópicos en individuos de mayor tamaño (machos y hembras), lo cual no fue posible aquí por cuestiones logísticas.

7.4.5 Marcado y recaptura

El trabajo se realizó totalmente en el campo, con un alto grado de realismo en cuanto al hábitat, características físico-ambientales, disponibilidad de alimento, etc. El esmalte resultó ser un buen método de marcado (eficaz y de bajo costo), obteniéndose recapturas en el mismo sitio aún luego de 2 años del primer evento de marcado. Ésto indicaría además que la especie estudiada es poco migratoria o que posee un rango de hábitat escaso. En el campo se observaron los individuos marcados realizando actividades

normales, por lo que se puede inferir que el esmalte no influyó sobre el comportamiento de los individuos.

El modelo que se utilizó para ajustar los datos fue el de von Bertalanffy (VB) (Brey, 1999); no se utilizaron otros más complejos (que brindan más información) debido a que en los resultados faltan las tallas inferiores a 60 mm, a partir de las cuales se podría estimar el punto de inflexión (por ejemplo en el modelo de Gompertz (Rodríguez *et al.*, 2001)). Modelos más complejos pueden resultar menos apropiados, dependiendo de la cantidad y calidad de los datos (Fiorda, 2008).

La mayor tasa de incremento fue de 0,095 mm por día o su equivalente de 34,79 mm en un período anual (si mantuviera constante el crecimiento). Esta tasa disminuye a medida que aumenta la talla de marcado, hasta hacerse nula en un largo infinito que es menor a los mayores valores registrados en este estudio por ser un valor máximo teórico promedio para la población; equivalentes a 88 mm en machos y 96 mm en hembras. El número de recapturas ha sido elevado considerando que se trata de una experiencia donde los individuos fueron liberados sin restricciones espaciales artificiales (jaulas, redes, etc.) ni naturales (bardas, bahías cerradas, charcas, etc.). Otros estudios de marcado y recaptura obtuvieron valores muy inferiores al 1% de recaptura (Laudien, 2002), o de hasta superior al 30% en espacios restringidos como pequeñas lagunas o piletones (Vasconcelos *et al.*, 2006). Por último, es deseable un mayor esfuerzo de marcado que incluya a los individuos más pequeños, de manera de poder alcanzar un mayor detalle en el modelo de crecimiento estimado.

Según los métodos de estimación del modelo de VB que se utilizaron, los parámetros k no resultaron significativamente diferentes entre sexos (0,62 - 0,66). Los valores de k de ambos sexos son altamente superiores a los 0,20 - 0,22 registrados en *Buccinum undatum* (Kideys, 1996), e incluso a los 0,28 - 0,46 de *Buccinanops globulosus* (Narvarte, 2006). Estas diferencias probablemente se deban a que en este estudio se consideró a la tasa de crecimiento constante, aunque es probable que exista una oscilación estacional. Como sustento de ello están los registros en esta tesis de marcas de crecimiento en el borde de la concha, únicamente entre los meses de mayo y noviembre. El desempeño (D) de crecimiento resultó intermedio entre el de *Buccinum undatum* y las

especies del género *Haliotis* y *Concholepas concholepas* (Shepherd y Hearn 1983; Kideys, 1996; Rodríguez *et al.*, 2001).

El análisis de los residuales no mostró un desbalance o dispersión diferencial, que sería indicador de que el ajuste de los datos al modelo puede no ser bueno. Otro efecto típicamente esperable sería un cruce de valores negativos a positivos que implicaría una talla de inflexión asociada a un máximo de la tasa de crecimiento relativo, a la madurez reproductiva u otro factor. Es probable que dicho cambio permanezca oculto por la falta de datos en las tallas inferiores, pobremente representadas en esta experiencia.

Los resultados de estimación del tamaño poblacional obtenidos mediante la proporción de individuos marcados y recuperados son de carácter orientativo, y a pesar de ser consistentes en ambos casos entre sí, se necesitan mayores estudios y más precisos. Debe considerarse la posibilidad de que existan migraciones estacionales (Bigatti, 2005) que generen variaciones en este tipo de estimaciones, a pesar de ser aparentemente una población fiel a su hábitat. Por otro lado, debido a las características del sitio de estudio y del experimento tal cual fue planteado, es difícil asignar la población a un área determinada.

Capítulo VI

8 Dieta y rol ecológico en la comunidad

8.1 INTRODUCCIÓN

Los caracoles de la familia Nassariidae en general son carnívoros, y han sido considerados mayormente como carroñeros (Harasewych, 1998). La mayoría de los estudios existentes realizados en esta familia tratan sobre aspectos de la alimentación de diversas especies del género *Nassarius*. Sin embargo, el rango dietario de las especies estudiadas de ese género abarcan desde la herbivoría y detritivoría (Scheltema, 1964) a la carnivoría (Morton y Britton, 2002), y hasta canibalismo (Morton y Chan, 1997). Son fácilmente atraídos por trampas cebadas con carne, que detectan a grandes distancias (Morton y Britton, 2003). Esta capacidad es especialmente notoria en especies intermareales que durante las mareas bajas salen del reposo, desenterrándose para aprovechar el escurrido de la playa que arrastra organismos muertos o moribundos. De esta manera evitarían la exposición a depredadores tales como peces, cuando la marea los cubre (Morton y Britton, 2003). También se ha visto que en algunos casos estos caracoles despliegan comportamientos depredatorios tales como manipulación de las presas y perforación de estructuras dérmicas con placas como los holoturios (Morton y Britton, 2002). En el género *Buccinanops* en particular, el único estudio previo acerca de la dieta pertenece a Penchaszadeh (1971b). En éste, los caracoles de la especie *B. monilifer* mantenidos en acuarios no reaccionaron ante el ofrecimiento de diversas presas muertas (trozos de camarón y bivalvos), sin embargo el contenido estomacal de individuos recién capturados mostró restos de crustáceos varios. No existen estudios sobre los mecanismos de captura de presas (si ocurrieran).

La especie *Buccinanops cochlidium* presenta caracteres radulares que se incluirían entre las correspondientes a especies carnívoras. Posee una rádula “rachiglossa” con el diente central multi-cuspidado, y de tamaño creciente hacia el medio de la serie (Taylor *et al.*, 1980). Los dientes laterales en general son simétricos, aunque se han registrados

asimetrías marcadas, y sus cúspides interna y externa tienen siempre forma de gancho hacia el centro de la pieza (Pastorino, 1993b).

La población de *B. cochlidium* estudiada forma parte de una comunidad bentónica en donde además habitan otros organismos de la megafauna como moluscos gasterópodos y bivalvos, y artrópodos decápodos. La anémona *Antholoba achates*, típicamente habitante de fondos duros cercanos, es otra especie predominante que utiliza como sustrato las conchas de ejemplares vivos de *B. cochlidium*, pero no la de otros gasterópodos presentes. La relación entre estas dos especies resulta de gran interés ecológico. Fue registrada por Pastorino (1993b), quien discute las posibles ventajas del caracol de llevar un pesado y poco dinámico organismo sobre su concha. Esta misma especie de anémona suele encontrarse en otros sitios del Mar Argentino sobre cangrejos (Acuña *et al.*, 2003) y otros gasterópodos de la familia Volutidae (Luzzatto y Pastorino, 2006; Bigatti, com. pers.), en los que se plantea la misma discusión.

En este capítulo se estudia la composición de la dieta de *Buccinanops cochlidium* y los mecanismos de alimentación, y la interacción con la anémona epibionte *A. achates* a través de observaciones de campo.

8.2 MATERIALES Y MÉTODOS

8.2.1 Dieta

Para el estudio de la dieta de *Buccinanops cochlidium*, se registraron todos los eventos de alimentación observados *in situ*. Durante más de 3 años de buceos mensuales (finales de 2004 – comienzos de 2008) se observaron, registraron y colectaron todos los individuos que estuvieran alimentándose solitariamente o en grupos. Se consideraron a los caracoles efectivamente alimentándose (raspando la carne con la rádula, independientemente de cuán consumida estuviera la misma) o acechando a una potencial presa (manipulándola, sobre ella o intentando penetrar su cuerpo).

En todos los casos se midieron los caracoles intervinientes, y se colectaron las presas. Una vez en el laboratorio las mismas fueron identificadas a nivel específico y medidas. Los muestreos fueron siempre diurnos por motivos logísticos.

Como complemento en los animales colectados y procesados para histología se abrió el estomago y buscaron restos de alimento bajo una lupa (hasta 5 aumentos).

8.2.2 Depredación y competencia

Se estudió cualitativamente la relación trófica entre *B. cochlidium* y *Antholoba achates*. Para ello se analizaron los sucesos de alimentación de la anémona en el campo. Asimismo se consideraron otros potenciales depredadores y competidores por el recurso alimenticio del caracol.

8.2.3 Experiencia en acuarios

Cerca de 20 individuos fueron depositados en acuarios de 200 litros con filtros y bombas de circulación de agua, y acondicionados según se describió en la metodología general. Entre ellos se incluyeron machos, hembras portando ovicápsulas y sin ellas. Se observó y registró cualitativamente el comportamiento general, movilidad, alimentación, enterramiento y desenterramiento. Los caracoles depositados en los acuarios acondicionados fueron alimentados en un principio semanalmente con carne cocida porcina y vacuna. Posteriormente con almejas congeladas, adquiridas en pescaderías. Luego se consiguieron almejas navaja frescas (*Ensis macha*) extraídas de la misma zona de muestreo (aunque generalmente moribundas). Se registró el tiempo de reacción ante la oferta de alimento, para machos y hembras (con y sin ovicápsulas).

8.2.4 Composición del bentos

Se realizó una descripción de la mega-fauna de la comunidad del área de estudio, mediante un estudio exhaustivo de la macrofauna del fondo donde habita *B. cochlidium*, considerando la epifauna y la infauna. Para ello se estudió un área muestral de 100 x 50 metros (paralela a la línea de costa) entre los puntos GPS 42°24'08"S-64°27'30"O y 42°24'10"S-64°27'26"O, dentro de la zona habitada por los caracoles y la anémona, y en los que se encuentran las especies consumidas por el caracol. El tamaño de las unidades muestrales y del área muestral se decidió en base al tamaño del organismo y a su relativa fidelidad al hábitat (ver capítulo V). Se realizaron muestreos en 10 puntos dentro del área de estudio, organizados de manera equidistante dentro de dos transectas paralelas a la

costa y entre sí. La distancia entre puntos de una misma transecta fue de 20 metros y entre transectas de 50 metros, aproximadamente (Fig. 8.1).

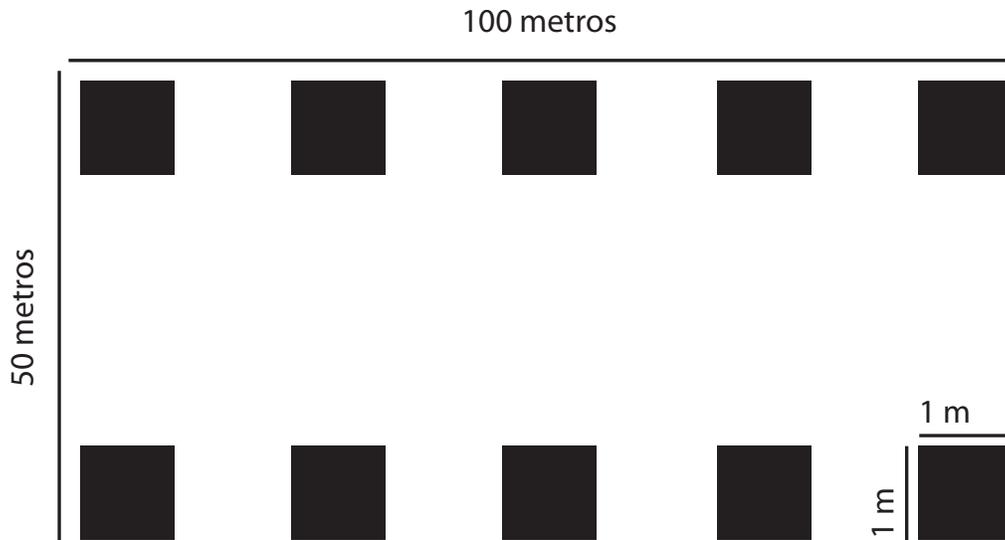


Figura 8.1. Esquema del diseño muestral de la comunidad bentónica (no a escala).

En cada punto se colocó un cuadrante de 1 m^2 del cual se tomó una fotografía (presencia de epifauna), y a la vez se tomó una submuestra con un "core" de 18 cm de diámetro y 10 cm de profundidad (infauna). Para ello se utilizó un sistema de succión por aire a presión (Livore, com. pers.) con un bolsa colectora de 1 mm de diámetro de malla (Fig. 8.2).



Figura 8.2. Muestreo del bentos. A- Se muestran recolectando muestras; B a D-técnica de succión de un “core” (de 18 cm de diámetro interno) dentro de un cuadrante.

Las muestras fueron embolsadas individualmente bajo el agua en bolsas plásticas con cierre e fijadas en formol 5% en agua de mar inmediatamente al regresar a la costa. Una vez en el laboratorio se procedió al análisis de cada submuestra para determinar su composición. Cada fracción fue separada por taxones y los ítems identificados, contados y pesados para luego calcular su densidad (número de individuos/m³) y porcentaje en biomasa (gramos/m³) para cada estación de muestreo, agrupando los 10 sitios en cada estación. Se aclara que se expresa en m³ aunque corresponde a un volumen equivalente, considerando los primeros 10 cm de profundidad.

En cada punto completaron estos datos una muestra de agua de 100 ml, a la cual se midió pH, temperatura y salinidad. También se recolectó una muestra de sedimento de 10 cm de profundidad y 5 cm de diámetro de la que se obtuvo la sedimentología. Para ello se secaron las muestras en estufa a 60 °C, se separaron y pesaron las fracciones mediante una columna de tamices de grano decreciente (4000, 1000, 500, 250, 125 y 62 micrones) en un agitador tipo “rot-up”.

8.3 RESULTADOS

8.3.1 Dieta

Durante 3 años de muestreos mensuales por buceo se obtuvieron 55 eventos de alimentación *in situ*. De este total 10 ítems alimentarios fueron catalogados como carroña (animales muertos y en descomposición en el fondo marino), incluyendo peces (descarte de la pesca artesanal), cangrejos, y holoturias, entre otros. El resto incluye 45 sucesos de depredación sobre animales vivos, o animales consumidos parcialmente pero aún enterrados o en posición de vida. Estos fueron mayoritariamente bivalvos (73%, de los cuales 60% fueron *Ensis macha* y 35% *Tellina petitiana*), y en menor medida holoturoideos (2%, conformado por las especies *Pentamera chilensis* y *Paracaudina chilensis*) y otros grupos.

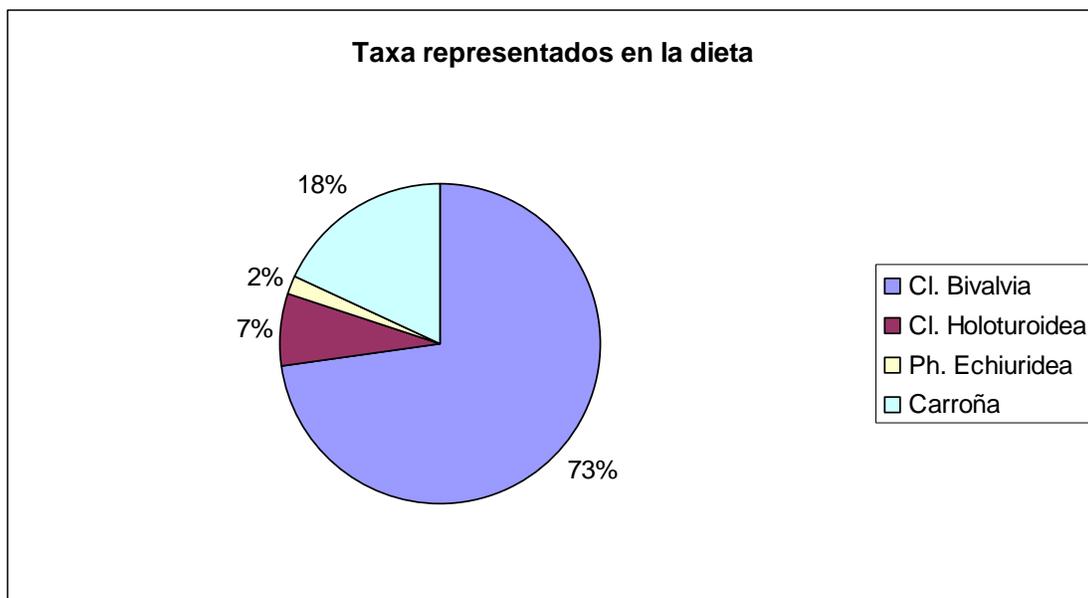


Figura 8.3. Dieta de *B. cochlidium* por taxones mayores.

En la Figura 8.3 se muestran los porcentajes de cada tipo o grupo de ítem alimentario, y en la Figura 8.4 se observan la cantidad total de eventos de alimentación por especie (de la presa).

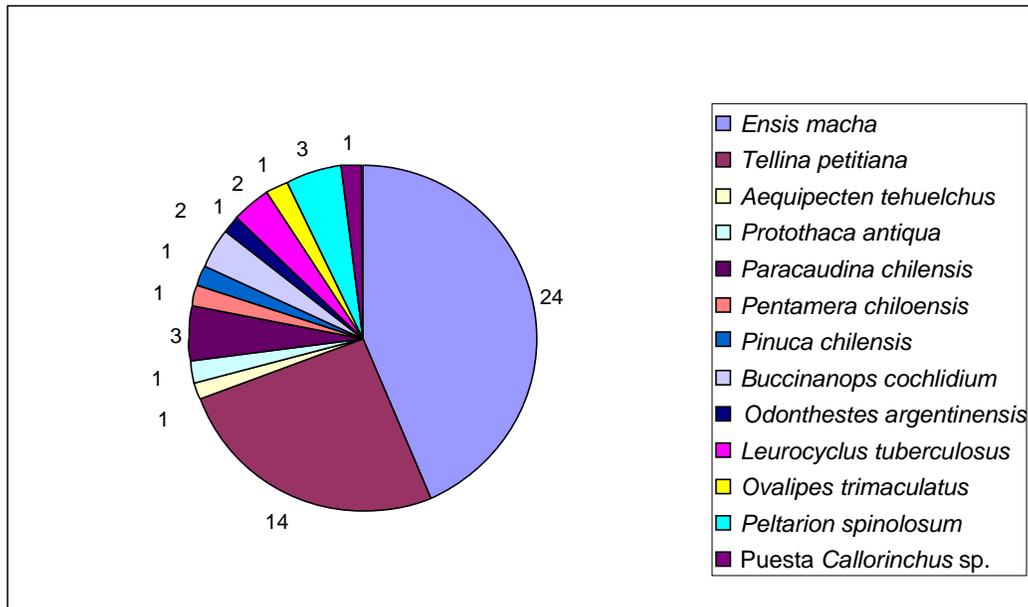


Figura 8.4. Dieta de *B. cochlidium* por especies. Se indican la cantidad de eventos en cada caso.

En los eventos individuales catalogados como depredación los caracoles penetraron la presa mediante la inserción de la probóscide, raspando las partes blandas con la rádula. Esta modalidad depredatoria mostró 3 variantes:

1- El caracol sujeta la presa con el pie, enterrados ambos, mientras introduce la probóscide en ella (Fig. 8.5. A-C). En general son presas de tamaño medio a pequeño (*Paracaudina chilensis* y *Tellina petitiana*).

2- El caracol se coloca sobre la presa (de mayor tamaño) sosteniéndose con el pie e introduce la probóscide por el sifón o entre las valvas, típicamente en *Ensis macha* enterradas o semi-enterradas (Fig. 8.6).

3- Los caracoles introducen su probóscide entre las valvas de bivalvos aprovechando cuando están abiertas, sin sujetarlos (*Aequipecten tehuelchus* y *Prothotraca antiqua*).

En algunas ocasiones al desenterrar un caracol este se encontraba con la probóscide totalmente evaginada, pero no se halló ninguna presa visible en el sedimento. En otras ocasiones los caracoles se desplazaban en el fondo marino con las probóscides evaginadas sobre el sustrato siguiendo el rastro de moco de otro caracol de la misma especie (Fig. 8.5. D-F). Estos casos no fueron considerados dentro de los eventos de depredación.

Páginas siguientes (138-139):

Figura 8.5. *B. cochlidium* comiendo. A- *B. cochlidium* sosteniendo una presa con el pie; B- Detalle de (A), la presa es un *P. chilensis*; C- Dos individuos adultos se alimentan de los extremos de un ejemplar de *P. chilensis*; D a F- Secuencia de caracoles comiendo el rastro de moco de sus co-específicos. Escalas: (A) = 20 mm, (B) = 10 mm, (C) = 20 mm, (D-F) = 10 mm.

Figura 8.6. *B. cochlidium* comiendo. A a C- Un ejemplar de *B. cochlidium* adulto montado sobre una almeja navaja (*E. macha*); al retirar al caracol se observa que el sifón fue ingerido. La misma almeja desenterrada, su pie se encuentra intacto; D- Otro *B. cochlidium* intentaba depredar una almeja de tamaño similar, cuyo sifón está aún intacto; E a F- Dos caracoles adultos comiendo un ejemplar de *E. macha* (de 130 mm de largo de concha), y al alejarse las valvas quedan vacías.

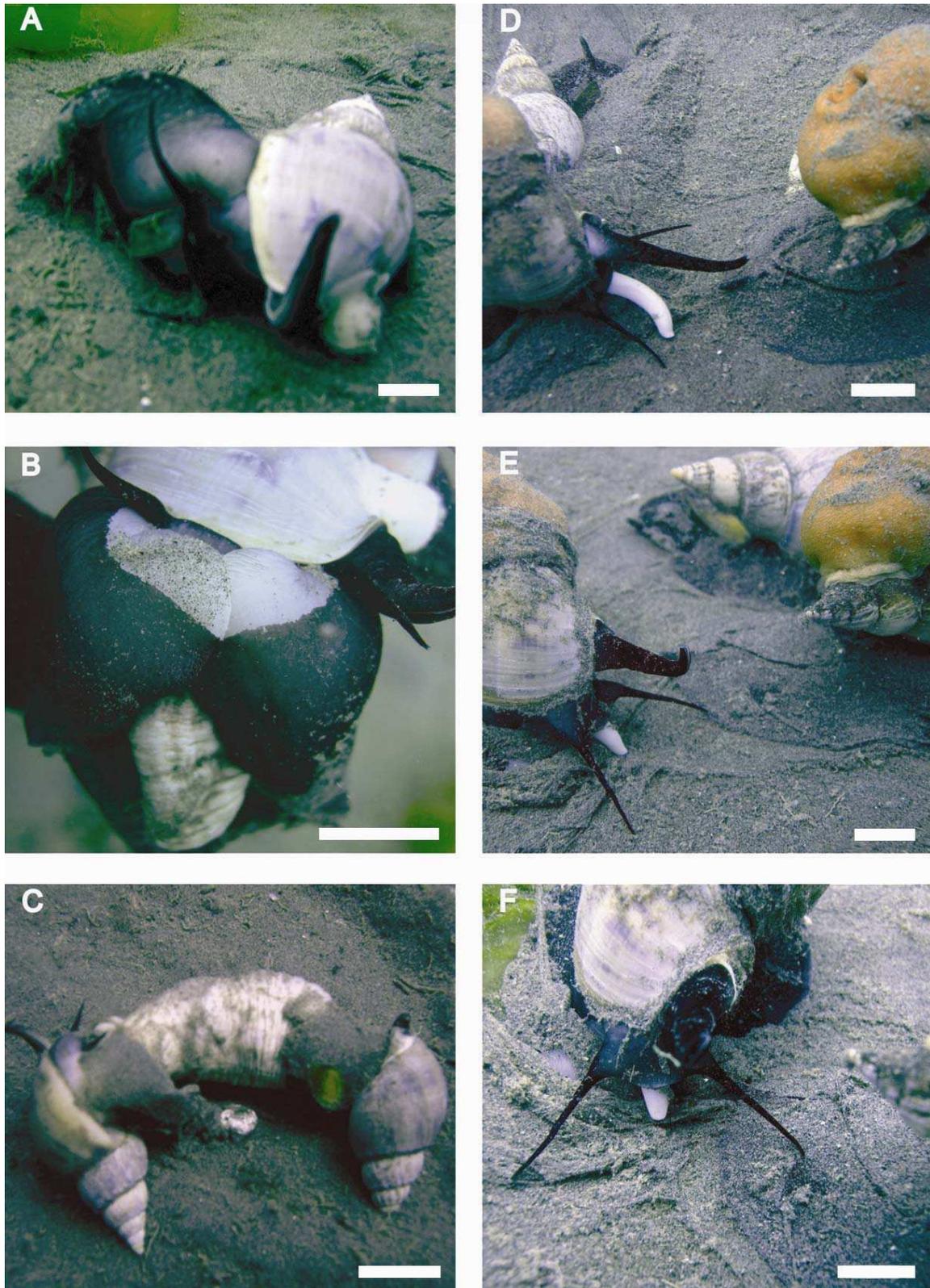


Figura 8.5.

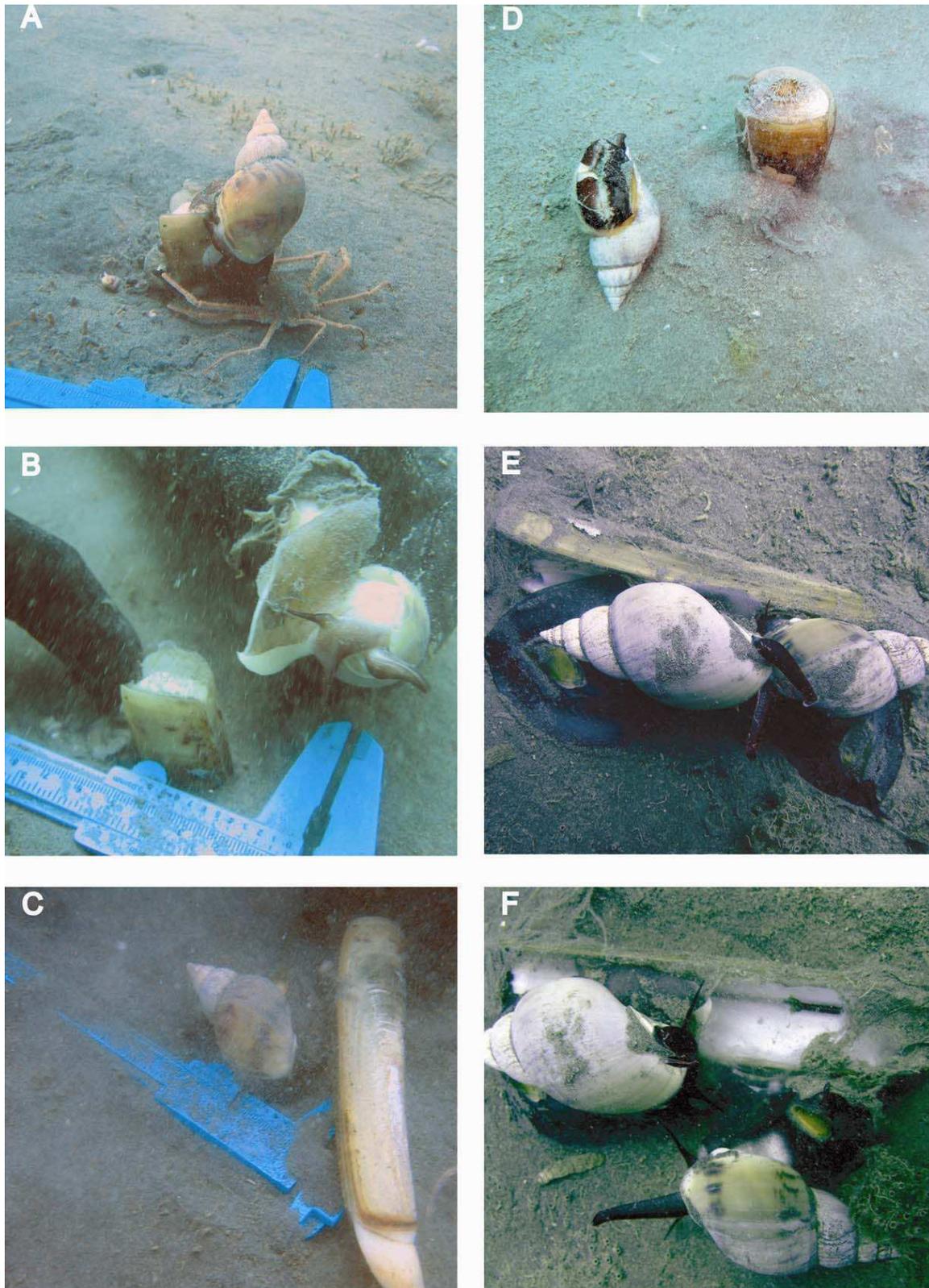


Figura 8.6.

Se encontraron eventos grupales de hasta 20 individuos alimentándose, ya sea de carroña (n= 4) o de la presa depredada (n= 12), en los que la presa se encontraba ya consumida en su mayor parte. Generalmente 1 a 4 adultos de *B. cochlidium*, acompañado uno a numerosos (1 a 17) juveniles de entre 4 y 25 mm. En 3 ocasiones estos sucesos grupales constaban sólo de juveniles (ver Tabla 8.1)

Tabla 8.1. Eventos de alimentación registrados en el campo. Número de caracoles intervinientes, presa y estación del año (en rojo los eventos considerados como carroñeo).

Número de evento	Cantidad de caracoles	Presa	Estación
1	1	<i>Tellina petitiana</i>	verano
2	2	<i>Ensis macha</i>	verano
3	1	<i>Ensis macha</i>	verano
4	3	<i>Aequipecten tehuelchus</i>	verano
5	9	<i>Ensis macha</i>	verano
6	1 adulto y 4 juveniles	<i>Ensis macha</i>	verano
7	1 adulto y 3 juveniles	<i>Ensis macha</i>	verano
8	1	<i>Tellina petitiana</i>	verano
9	1	<i>Ensis macha</i>	verano
10	1 adulto y 11 juveniles	<i>Peltarion spinosulum</i>	verano
11	4 adultos	<i>Ensis macha</i>	verano
12	1	<i>Ensis macha</i>	verano
13	2 adultos	<i>Ensis macha</i>	verano
14	7	<i>Ensis macha</i>	verano
15	1 juvenil	<i>Ensis macha</i>	verano
16	1	<i>Ensis macha</i>	verano
17	2 adultos	<i>Ensis macha</i>	verano
18	1	<i>Ensis macha</i>	verano
19	2	<i>Ensis macha</i>	otoño
20	1	<i>Ensis macha</i>	otoño
21	1	<i>Ensis macha</i>	otoño
22	1	<i>Tellina petitiana</i>	otoño
23	1	<i>Tellina petitiana</i>	invierno
24	1	<i>Tellina petitiana</i>	invierno
25	1	<i>Tellina petitiana</i>	invierno
26	1	<i>Tellina petitiana</i>	invierno
27	1	<i>Ensis macha</i>	invierno
28	1	<i>Ensis macha</i>	invierno
29	8 (adultos y juveniles)	<i>Peltarion spinosulum</i>	primavera
30	1	<i>Puesta Callorinchus sp.</i>	primavera
31	1	<i>Ensis macha</i>	primavera
32	1	<i>Ensis macha</i>	primavera
33	1	<i>Odonthestes argentinensis</i>	primavera
34	1	<i>Tellina petitiana</i>	primavera

35	1	<i>Tellina petitiana</i>	primavera
36	1	<i>Ensis macha</i>	primavera
37	1	<i>Ovalipes trimaculatus</i>	primavera
38	1	<i>Peltarion spinosulum</i>	primavera
39	5 juveniles	<i>Leurocyclus tuberculosus</i>	primavera
40	1	<i>Tellina petitiana</i>	primavera
41	1	<i>Ensis macha</i>	primavera
42	1 adulto y 7 juveniles	<i>Leurocyclus tuberculosus</i>	primavera
43	1	<i>Protothaca antiqua</i>	primavera
44	1	<i>Tellina petitiana</i>	primavera
45	1	<i>Tellina petitiana</i>	primavera
46	1	<i>B. cochlidium</i>	primavera
47	1	<i>Paracaudina chilensis</i>	primavera
48	3	<i>Pentamera chiloensis</i>	primavera
49	1	<i>Ensis macha</i>	primavera
50	1	<i>Paracaudina chilensis</i>	primavera
51	2	<i>Paracaudina chilensis</i>	primavera
52	1	<i>Tellina petitiana</i>	primavera
53	1	<i>Tellina petitiana</i>	primavera
54	1	<i>B. cochlidium</i>	primavera
55	1	<i>Pinuca chilensis</i>	primavera

*en 8 casos *B. cochlidium* tenía la probóscide evaginada al desenterrarlo pero no se halló presa.

En la Figura 8.7 se muestran algunos de las especies de las que se alimenta *B. cochlidium* no mostradas previamente.

Página siguiente: Figura 8.7. Otras presas de *B. cochlidium*. A- *Retrotapes exalbidus*; B- Valvas de *Tellina petitiana*; C- *Aequipecten tehuelchus*; D- *Ensis macha* enterrándose; E- *Paracaudina chilensis* desenterrado; F- *Pinuca chilensis*. Escalas: (A-F) = 20 mm.

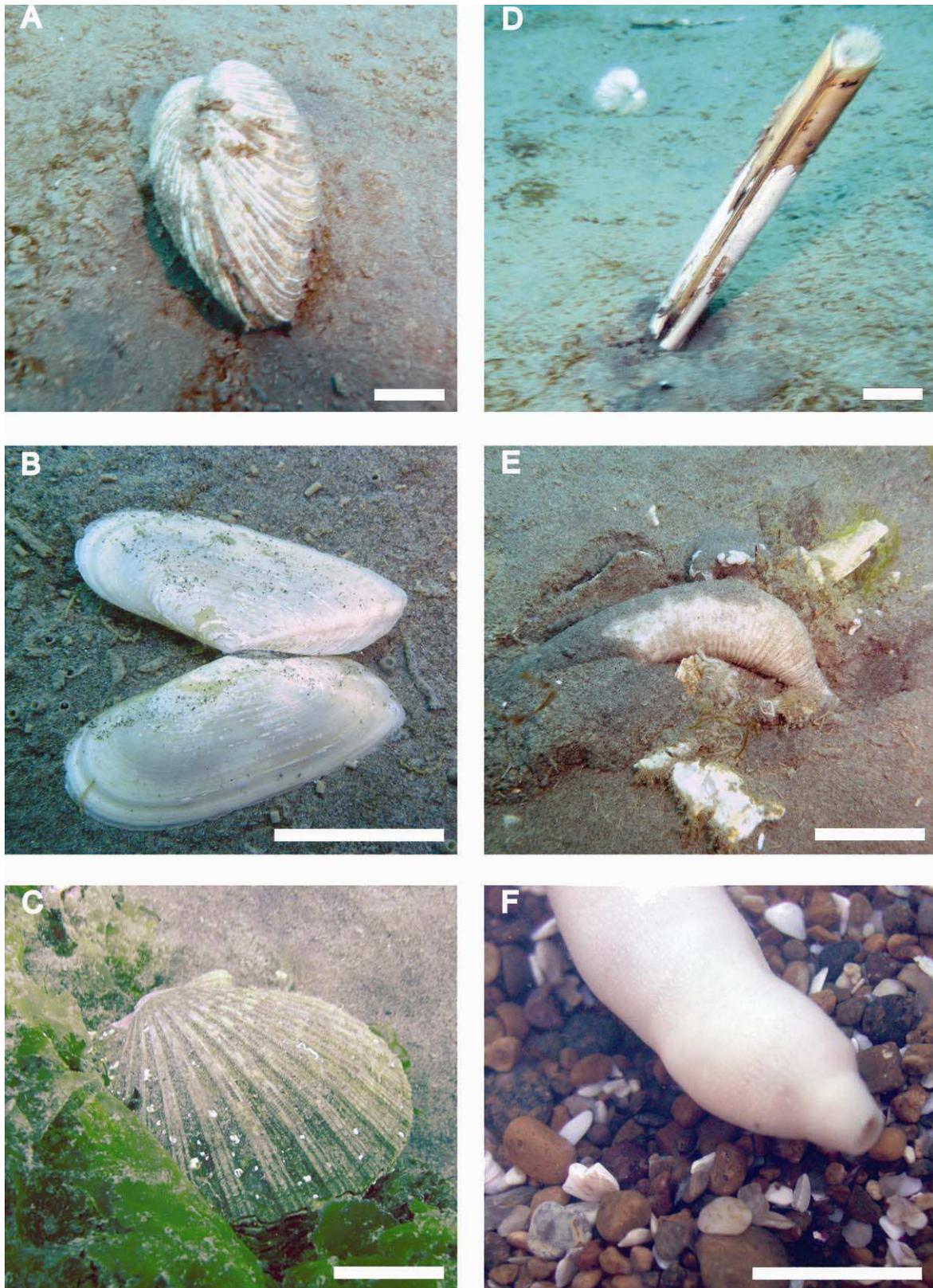


Figura 8.7.

Entre los estómagos analizados (n= 409) más del 99% se encontraban vacíos, y sólo en 3 casos (0,73%) se observó contenido en los mismos que constaba en todos los casos de músculo blanco (similar al pie de una almeja u otro molusco) en distintos grados de digestión.

8.3.2 Depredación y competencia

Durante los buceos realizados en el período de estudio se observaron las siguientes características acerca de la interacción entre la anémona (*Antholoba achates*) y el caracol *Buccinanops cochlidium*:

- En el presente estudio se registraron individuos de *A. achates* sobre la concha de caracoles siempre superiores a 60 mm de LT. Algunos caracoles de tallas superiores a 90 mm portaban 2 anémonas; nunca se observaron más de 2 anémonas sobre una concha de *B. cochlidium*.
- *A. achates* ocasionalmente captura con sus tentáculos a ejemplares juveniles de *B. cochlidium* (n= 3) que se encuentran cerca del individuo que le sirve de sustrato (se encontraron dentro de la anémona caracoles de hasta 35 mm de LT). Para ello se vuelca sobre un lado de la concha a la que esta adherida, arrastrando sus tentáculos sobre la superficie del fondo marino (Fig. 8.8. A).
- La anémona compite con *B. cochlidium* por el alimento, dado que ingiere a todo animal que pueda capturar y llevar hasta la cavidad faringo-gástrica. Entre las especies que se hallaron en el interior de las anémonas estudiadas (n= 59) se encuentran, además de *B. cochlidium*: *Ensis macha* (n= 2), *Tellina petitiana* (n= 1), *Paracaudina chilensis* (n= 2), *Leurocyclus tuberculatus* (n= 5) y *Serolis schythei* (n= 3). Además se encontraron ovicápsulas de *B. cochlidium* pertenecientes a la hembras portadora de la anémona (n= 1).

Otros depredadores y competidores del recurso alimenticio con *B. cochlidium* son:

- *Odontocymbiola magellanica* manipula con el pie a individuos medianos a chicos de *B. cochlidium* (entre 25 y 93 mm de LT, incluyendo hembras portando ovicápsulas). Asimismo es depredador de bivalvos, en el área de estudio principalmente *Ensis macha* (Fig. 8.8. B, F).

- Se encontraron conchas vacías del caracol (de aspecto no erosionado) y opérculos amontonados formando parte del refugio del “pulpito” *Octopus tehuelchus* (Fig. 8.8. C). A la vez utiliza las conchas como sitio de puesta de las cápsulas ovígeras. En este trabajo no se lo observó durante un evento de depredación, aunque podría depredar sobre *B. cochlidium*.
- Otras especies que compiten por el alimento son los cangrejos, principalmente *L. tuberculosus* y en segundo orden *P. spinolosum*. Aunque no depredan directamente sobre *B. cochlidium* se alimentan de los rastros de moco que ellos dejan, de sus puestas y de almejas y carroña que el caracol utiliza como alimento (Fig. 8.8. D-F).

Página siguiente: Figura 8.8. Especies depredadoras y competidoras de *B. cochlidium*. A- *A. achates* sobre la concha de *B. cochlidium*; B- *O. magellanica* junto a *B. cochlidium*; C- *Octopus tehuelchus*; D- *Leurocyclus tuberculosus* sosteniendo una almeja *Ensis macha*; E- Dos ejemplares de *L. tuberculosus* disputándose una presa; F- *O. magellanica* comiendo una almeja *E. macha* junto a *L. tuberculosus*. Escalas: (A)= 20 mm (B)= 100 mm, (C)= 20 mm, (E-F)= 50 mm.

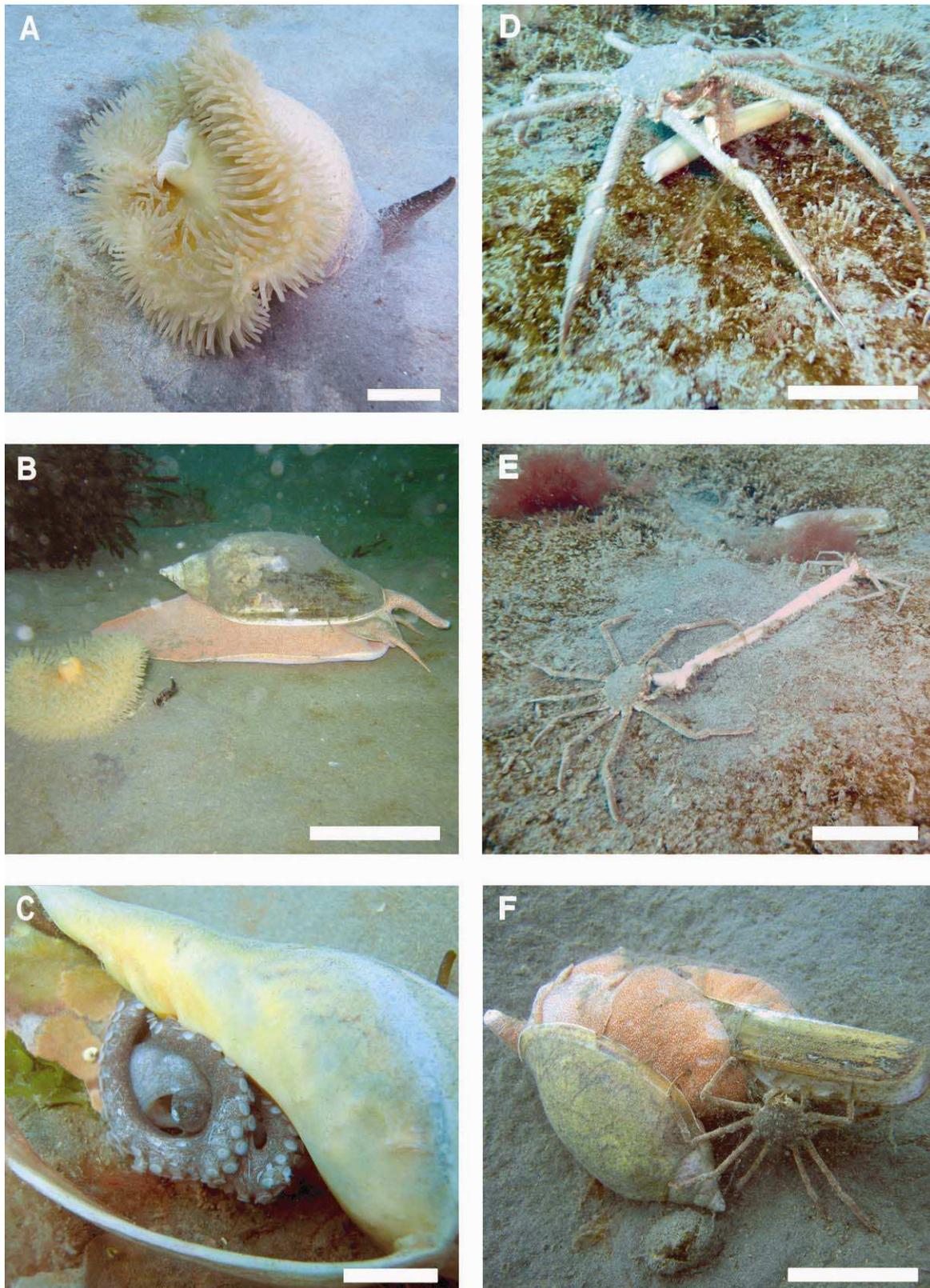


Figura 8.8.

Otro aspecto interesante es el comportamiento de escape que muestra *B. cochlidium* en presencia de sus depredadores. El mismo consiste en movimientos circulares (tipo látigo) y violentos del pie, totalmente rígido y extendido fuera de la concha. De esta manera consigue rodar rápidamente sobre el fondo, aún encontrándose previamente enterrado, y alejarse del depredador (Fig. 8.9.). Este comportamiento fue observado en varias ocasiones en las que el caracol era atacado, molestado por algún otro animal o por los buzos.

Página siguiente: Figura 8.9. Comportamiento de escape de *B. cochlidium* ante un depredador. A a F- Secuencia: una voluta *O. magellanica* (140 mm de LT) acecha a un macho de *B. cochlidium* (75 mm de LT) que escapa mediante movimientos del pie. Luego de alejarse recupera la posición reptante.

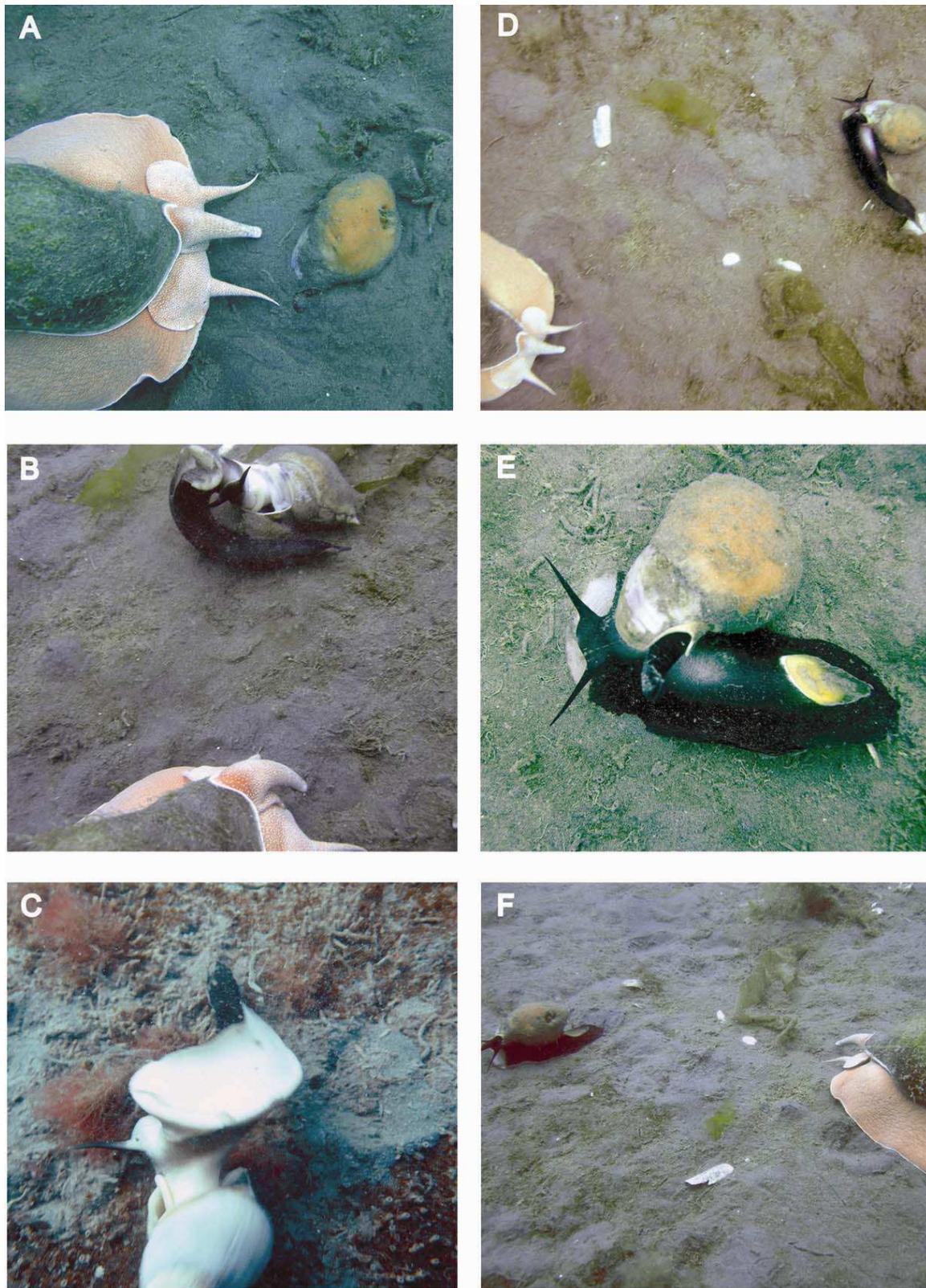


Figura 8.9.

8.3.3 Experiencia en acuarios

En pruebas pilotos realizadas en el campo en *B. globulosus* y el propio *B. cochlidium*, ambas especies respondieron activamente cuando se les ofreció carne cruda.

Los caracoles *Buccinanops cochlidium* en acuarios rechazaron las carnes cocidas, excepto luego de mucho tiempo sin ingerir alimento. Las almejas crudas (vivas o muertas), por el contrario fueron ingeridas inmediatamente cada vez que se las ofreció, por ello fue el alimento elegido para alimentarlos cada vez que fue posible.

El tiempo de reacción (primer caracol desenterrado) desde que las almejas tocaron el agua varió entre 2 y 10 segundos. El último caracol en desenterrarse nunca tardó más de un minuto (n= 10 pruebas). Los animales reaccionaron de la misma manera independientemente de la cantidad de almejas ofrecidas, incluso al derramar solo una gota del líquido contenido en las bolsas donde las mismas se transportaban. Las hembras portando ovi-cápsulas nunca reaccionaron ante el ofrecimiento de las mismas almejas y/o líquido, indistintamente de la cantidad ofrecida ni de estar las mismas solas o acompañadas en los acuario (n= 6 pruebas). Luego de 6 horas de inactividad se consideró que ya no comerían y se retiró el alimento.

8.3.4 Composición del bentos

Los resultados del estudio de la comunidad que cohabita con *B. cochlidium* muestran la siguiente composición macro-infaunal:

En los muestreos de primavera y otoño, la comunidad se encuentra representada principalmente por poliquetos (56 y 21% de la densidad, respectivamente), moluscos gasterópodos (25 y 60%), bivalvos (14 y 6%) y crustáceos (5 y 15%) (Fig. 8.10).

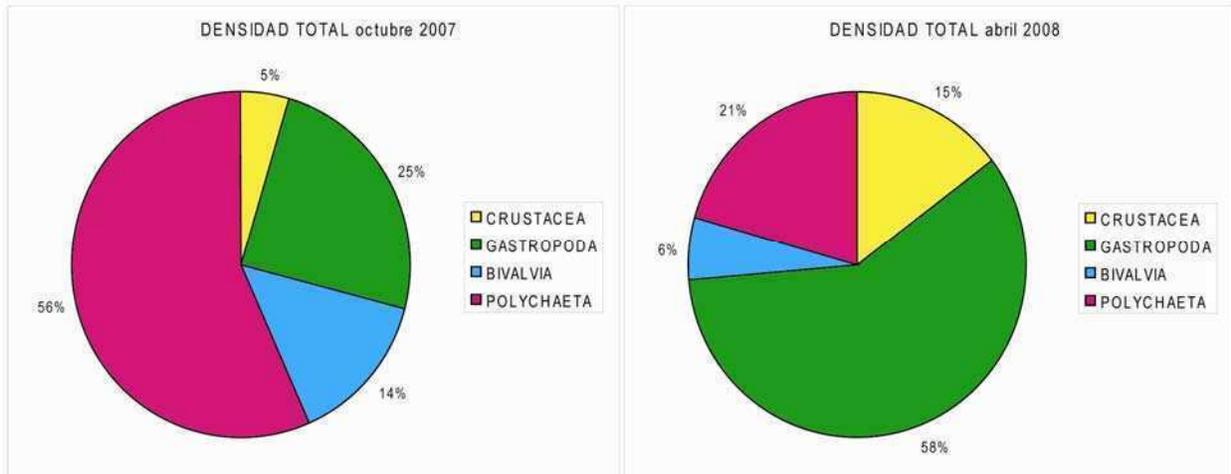


Figura 8.10. Proporción por taxones mayores –primavera (octubre 2007) y otoño (abril 2008).

Considerando la biomasa los porcentajes fueron: en poliquetos 31 y 16 % respectivamente, moluscos gasterópodos 35 y 38 %, bivalvos 34 y 31 %, y crustáceos <1 y 15 % (Tabla 8.2).

Tabla 8.2. Biomasa por grandes grupos (en gramos por m³).

	CRUSTACEA	GASTROPODA	BIVALVIA	POLYCHAETA
Oct-07	0,16	19,25	19,22	17,35
Abr-08	166,18	207,27	165,26	83,42

Los grupos más representados fueron los moluscos gasterópodos y los poliquetos, con distinta prevalencia por estación siendo los primeros más abundantes en otoño y los últimos en primavera con densidades de hasta 4000 individuos por m³ de cada grupo (lo que equivaldría a 400 individuos en un cuadrante de 1m por 1m, considerando los primeros 10 cm de profundidad). Al revisar las especies más representadas en cada grupo sobresalieron las de menor tamaño como *Acteocina candei* y *Epitonium fabrizioi* (gasterópodos), *Tellina petitiana* (bivalvo), entre otros. También se registraron juveniles de especies de mayor tamaño en época de reclutamiento (abril), como *Buccinanops cochlidium* y *Odontocymbiola magellanica* (gasterópodos), *Panopea abbreviata*, *Mactra* sp. y *Tivella* sp. (bivalvos), entre los Mollusca, o los braquiuros entre los Crustacea (ver Tabla 8.3).

Tabla 8.3. Número de individuos observados y densidad (por m³, en los primeros 10 cm de sedimento más superficiales), correspondientes a octubre y abril.

	Oct-07		Abr-08	
	indiv tot	indiv/m ³	indiv tot	indiv/m ³
<i>Rochinia gracilipes</i>	0	0	3	117,89
<i>Peltarion spinosulum</i>	0	0	2	78,59
<i>Leurocyclus tuberculosus</i>	0	0	2	78,59
<i>Cyrtograpsus affinis</i>	0	0	1	39,29
<i>Balanus laevis</i>	0	0	3	117,89
<i>Balanus improvisus</i>	0	0	5	196,48
TANAIDACEA	7	275,08	6	235,78
LEPTOSTRACA	1	39,29	3	117,89
MYSIDACEA	0	0	8	314,37
<i>Serolis schythei</i>	0	0	1	39,29
<i>Acteocina candei</i>	20	785,94	102	4008,33
<i>Tegula patagonica</i>	5	196,48	3	117,89
<i>Epitonium fabrizioi</i>	16	628,75	14	550,16
<i>Buccinanops cochlidium</i>	1	39,29	13	510,86
<i>Trochita pileus</i>	0	0	1	39,29
<i>Odontocymbiola magellanica</i>	0	0	2	78,59
<i>Mactra janeiroensis</i>	3	117,89	0	0
<i>Mactra</i> sp.	9	353,67	0	0
<i>Tivella</i> sp.	2	78,59	0	0
<i>Tellina petitiana</i>	5	196,48	5	196,48
<i>Pitar rostrata</i>	4	157,18	1	39,29
<i>Mytilus edulis</i>	1	39,29	0	0
<i>Protothaca antiqua</i>	0	0	4	157,18
<i>Panopea abbreviatta</i>	0	0	1	39,29
<i>Thracia similis</i>	0	0	2	78,59
CIRRATULIDAE	33	1296,81	1	39,29
NEREIDAE	25	982,43	0	0
PLYLLODOCIDAE	6	235,78	0	0
GLYCERIDAE	1	39,29	0	0
POLYNOIDAE	1	39,29	2	78,59
NEPHTYDAE	7	275,08	39	1532,59
ORBINIIDAE	22	864,54	3	117,89
MALDANIDAE	1	39,29	1	39,29
LUMBRINERIDAE	1	39,29	1	39,29
OPHELIIDAE	0	0	1	39,29
total	171	6719,73	230	9116,83

No se registró a ningún organismo vivo en las fotos de los cuadrantes; sólo la presencia de valvas de bivalvos vacías en algunos casos. Por otro lado, la observación macroscópica de la superficie del fondo marino durante los buceos muestra una abundancia mayor de algunos animales no representados en estos muestreos, debido a su rapidez, gran capacidad de enterramiento o tamaño. Principalmente los cangrejos *Leurocyclus tuberculatus* y *Peltarion spinosulum*, o el isópodo *Serolis schythei* (Fig. 8.11. D-F), los bivalvos *Ensis macha* y *Aequipecten tehuelchus* (Fig. 8.7. C-D), y en menor medida *Retrotapes exalbidus* y *Pitar rostratus*, y el gasterópodo volútido *Odontocymbiola magellanica*.

La anémona *Antholoba achates* (típicamente de fondos duros) es otra especie preponderante que utiliza como substrato las conchas de ejemplares vivos de *B. cochlidium* (y no de otros gasterópodos presentes). Otros grupos presentes en menor medida son los opistobranquios, ascidias, otras anémonas, equinodermos, equiúridos, anfípodos, isópodos, cirripedios (sobre valvas y conchas de moluscos) y poliquetos. Se observan algas a la deriva, ya que no hay grandes superficies de sustrato adecuado para su establecimiento, aunque ocasionalmente crecen algunas de pequeño tamaño sobre las conchas de algunos *B. cochlidium*. En las Figuras 8.11 y 8.12 se muestran algunos de estos habitantes de la comunidad que pueden observarse en el área.

Algunos otros animales generalmente habitantes de fondos duros ocasionalmente se presentaban en la arena (generalmente luego de tormentas o fuertes vientos) como el ofiúrido *Ophioplocus januarii* o el equinoideo *Arbacia dufresnii* (Fig. 8.11. A-B).

Páginas siguientes (152-153):

Figura 8.11. Algunos representantes de la comunidad acompañante de *B. cochlidium* no presentados previamente. A- *Ophioplocus januarii*; B- *Arbacia dufresnii*; C- *Parabunodactis imperfecta*; D- *Peltarion spinosulum*; E- *Leurocyclus tuberculatus*; F- *Serolis schythei*. Escalas: (A-C) = 20 mm, (D-E) = 50 mm, (F) = 10 mm.

Figura 8.12. Otros representantes de la comunidad acompañante de *B. cochlidium* A- *Doris fontainii*; B- *Panopea abbreviata* (sifón); C- *Fissurellidea patagonica*; D- *Pleurobranchia inconspicua*; E- *Ciona intestinalis*; F- Puesta de *Callorhynchus callorhynchus* (sobre ella se observa una puesta de *O. magellanica*). Escalas: (A-B)= 30 mm, (C-E)= 20 mm, (F)= 30 mm.

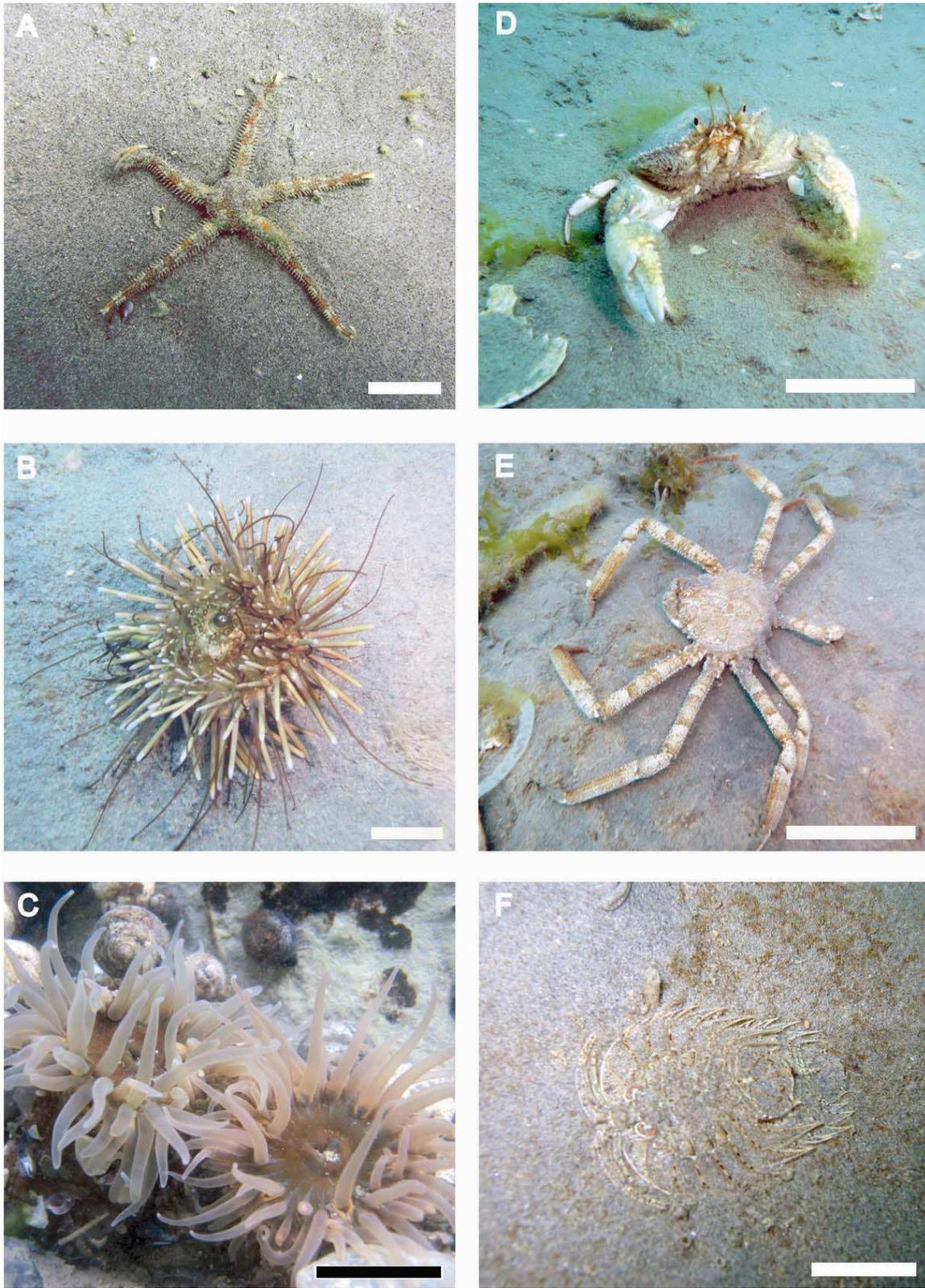


Figura 8.11.

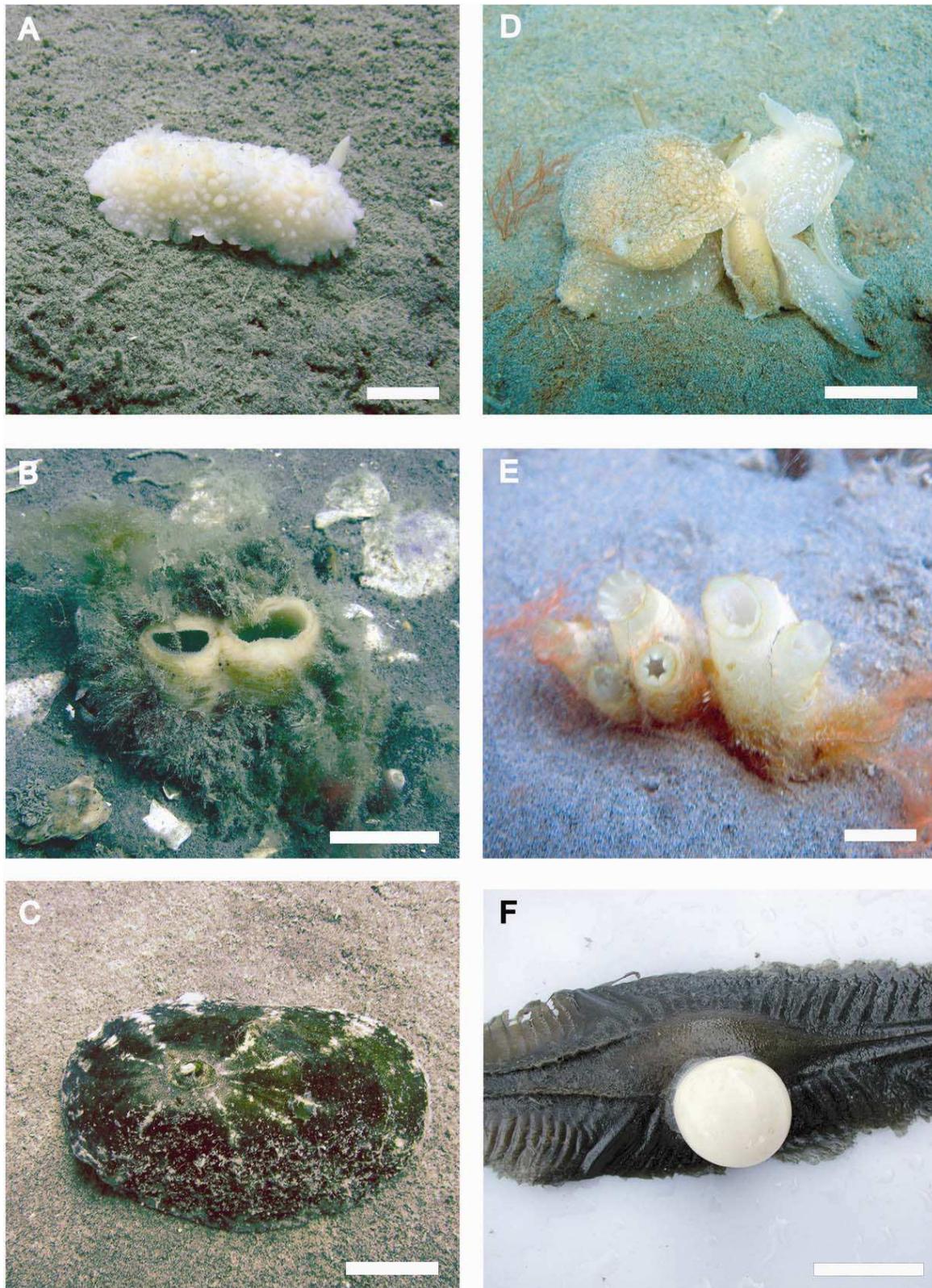


Figura 8.12.

Considerando la composición granulométrica de los sedimentos en conjunto, éstos tuvieron una marcada y homogénea presencia de las fracciones 62-125 µm (entre 50 y 60%) y 125-250 µm (entre 25 y 31%). Algunas pocas muestras evidenciaron mayor presencia de fracciones mayores (> 4000 µm) con valores variables entre 0 y 15% (aunque sus promedios fueron similares). Estos casos se asociaron a la presencia de restos de valvas de moluscos (Tabla 8.4).

Tabla 8.4. Sedimentos del área de estudio. Porcentajes promedios de cada fracción por estación.

Fracción	Otoño (%)	Primavera (%)
Mayor a 4000	2,11	2,15
Mayor a 1000	0,60	1,58
Mayor a 500	0,34	0,49
Mayor a 250	11,54	9,12
Mayor a 125	30,47	26,33
Mayor a 62	52,76	57,57
Menor a 62	2,18	2,77

La salinidad se mantuvo estable cercana a 35 ppm. La temperatura media del agua (*in situ*) fue de $13,55 \pm 2,6$ °C, y varió entre 9,2 °C (en octubre) y 18,9 °C (en abril). El pH varió entre 8,19 (promedio en octubre) y 8,45 (en abril).

8.4 DISCUSIÓN

8.4.1 Dieta

Buccinanops cochlidium se ubica entre los depredadores de la comunidad bentónica de la playa Villarino. Tiene una importante función tanto como depredador, aparentemente oportunista, principalmente de moluscos (bivalvos) y equinodermos (holoturoideos) y como carroñero de todo tipo de animales muertos sobre el fondo del mar. Ésto incluye el recurso generado por el descarte de la pesca artesanal local, como sucede con *B. globulosus* (Daleo *et al.*, 2005) y algunas especies de *Nassarius* (Morton, 2002; Morton y Chan, 2003). Otras especies de esta familia (en especial del género *Nassarius*) de hábitos intermareales detectan estos rastros de carroña a una distancia de hasta 26 metros; mientras que en especies submareales esta distancia se reduce a menos de 1 m (Morton y Britton, 2003).

Los resultados muestran que sólo en un porcentaje menor al 20% los caracoles se alimentaron de un animal muerto (descarte de pesca, animales que mueren naturalmente, etc.). Sin embargo es común que cuando un caracol *B. cochlidium* consigue una presa, otros individuos (generalmente juveniles) aprovechan para alimentarse de ella. El número y talla de individuos asociados a un evento de alimentación pareció estar relacionado a la época del año (con presencia de juveniles en los meses de final de la primavera y verano). Los juveniles de *B. cochlidium* se observan alimentándose de la “carroña” originada a partir de un evento de depredación de uno o más adultos.

Caracoles adultos de distintos tamaños sostienen con sus pies a una presa menor (*T. petitiana* o *P. chilensis*) o montada sobre una de mayor tamaño (*E. macha*), mientras la probóscide penetra para roer la carne con la rádula. En el primer caso parece posible que pudiera atraparlos vivos enterrados, manipulándolos como se expresó anteriormente, dado que son animales característicamente poco móviles. Sin embargo la almeja navaja puede enterrarse hasta más de 30 cm (Federico Márquez comunicación personal), lo que sugiere que fueron encontrados total o parcialmente expuestos. Algunas explicaciones para ello implican que se encontrarían afectados por parasitismo (Bartoli, 1978; Cremonte *et al.*, 2001) o durante períodos de migraciones verticales (Abades Torres *et al.*, 2001). En cualquier caso el mecanismo es similar al descrito para *Cominella eburnea* de la familia Buccinidae (muy afín a Nassariidae) según Kantor (1995), en el que la probóscide es introducida por el margen entre las valvas y no mediante perforación de las misma dado que carecen de órgano accesorio de perforación (OAP) (Morton, 2006). Por otro lado existen citas para *Buccinum undatum* (otro Buccinidae) que lo muestran como predador de bivalvos mediante variantes del mismo mecanismo de inserción de la probóscide observado en el presente trabajo, incluyendo la presencia de sustancias neuro-mio inhibitoras como la acrylcolina (Carriker, 1981).

Aunque *B. cochlidium* posee algunas veces algas creciendo sobre su concha, no se observó ningún indicio que sugiera que las utiliza como alimento, como es citado en otras especies de la misma familia (Scheltema, 1964).

El análisis del contenido estomacal mostró en general resultados nulos (99% vacíos), probablemente debido a que los tiempos transcurridos desde el campo hasta procesamiento en el laboratorio permitieron la digestión completa. Este tiempo se

incrementa aún más si se considera que se alimentaron la noche previa a la captura, suponiendo cierta la hipótesis de noctambulismo. Durante los muestreos diurnos se registró una elevada actividad general (cópula, oviposición, desplazamiento, etc.) de los caracoles, pero relativamente poca actividad de alimentación. Los eventos en que los caracoles enterrados tenían la probóscide extendida podrían implicar que la dieta esté también compuesta por organismos microscópicos; esto debería ser considerado en futuros estudios de la dieta.

En síntesis, *Buccinanops cochlidium* debería ser considerado en general como carnívoro. En particular, es “depredador” oportunista de presas vivas de tamaños inferiores al mismo caracol, y otras de mayor tamaño con poca movilidad, dañadas o moribundas en mayor medida. Además consume carroña y posiblemente detritos particulados sobre el fondo marino. En otras especies de nassariidos se conoce que los individuos se adaptan a ambientes antropizados por lo que generalmente se reconoce la utilización del recurso carroña, y no la actividad “depredatoria” natural (Morton, 2002). La playa Villarino se mantiene aún con actividad humana es reducida, y que permite el estudio de la población de esta especie en estado relativamente natural.

8.4.2 Depredación y competencia

Son varias las especies que depredan sobre las presas que consumen los caracoles *Buccinanops cochlidium*, y a la vez la mayoría de estos son también sus depredadores. Los cangrejos *Leurocyclus tuberculatus* y *Peltarion spinosulum* son muy abundantes y los primeros en acudir a un sitio donde *B. cochlidium* se encuentra alimentándose de carroña (desde un bivalvo hasta un pez).

Entre los depredadores se encuentran *Odontocymbiola magellanica*, otro neogasterópodo de la familia Volutidae (Bigatti, 2005), el pulpito *Octopus tehuelchus* que además utiliza las conchas de gasterópodos que consume como guarida y sitio de oviposición (Iribarne *et al.*, 1991, 1993), y la anémona *Antholoba achatas* epibionte de adultos de *B. cochlidium*. Esta anémona, se alimenta entre otras items, de juveniles y ovicápsulas de *B. cochlidium*. También comparte como depredador muchas de las presas que el caracol consume. Pastorino (1993a) sugiere una posible ventaja del caracol en llevar un pesado y poco dinámico organismo adherida sobre su concha, dado que es

además su competidor y depredador. Esta ventaja podría estar relacionada con una defensa anti-depredatoria; por el contrario esta relación podría deberse simplemente a que no puede evitar que la anémona se instale sobre su concha. Esta misma especie de anémona suele encontrarse sobre cangrejos (Acuña *et al.*, 2003), y otros gasterópodos de la familia Volutidae (Luzzatto y Pastorino, 2006; Bigatti *et al.*, en revisión, b), en los que se plantea la discusión sobre este tema. Estudios comparativos experimentales, en los que se considere por ejemplo a *O. magellanica*, otra especie que habita las mismas aguas y no lleva a la anémona, ayudarían a esclarecer el tipo de relación.

Por último se observaron algunos *B. cochlidium* siendo consumidos por otros caracoles de la misma especie. En estos casos fue difícil dilucidar si estos se encontraban ya muertos (carroña) o fueron depredados vivos; el tamaño de los caracoles que se alimentaban era siempre mayor comparado al de la “presa”.

8.4.3 Experiencia en acuarios

Los datos obtenidos a partir de la alimentación en los acuarios resultan de interés en vistas a futuros experimentos a campo o en acuarios (selección de presas, y tiempos de reacción, para machos, hembras y hembras portadoras de ovicápsulas). Los tiempos de reacción en acuario fueron marcadamente cortos, y por otro lado las hembras portadoras de ovicápsulas no reaccionaron ante el mismo estímulo y en las mismas condiciones. Queda por estudiar la preferencia de los caracoles entre los ítems que efectivamente utilizan como alimento, los tiempos de reacción, y confirmar si la inversión reproductiva de la hembra incluye además un período de ayuno durante los 4 meses que dura el desarrollo intracapsular. Si ello se comprueba, implica una etapa de gran vulnerabilidad (Brokordt *et al.*, 2003). Todo el sistema hembra-puesta-camada es un interesante modelo de estudio de inversión y éxito reproductivo en un grupo en el que existen pocos trabajos al respecto.

8.4.4 Composición del bentos

Los resultados de este estudio de la fauna bentónica asociada mostraron una representación preponderante de las especies de tallas menores y de los individuos juveniles de especies con tallas adultas más grandes. Los gasterópodos más abundantes fueron *Acteocina candei* y *Epitonium fabrizioi* en ambas temporadas (aunque *A. candei* fue mucho más abundante en el muestreo de otoño en el que también los juveniles de *B. cochlidium* mostraron una abundancia destacada). Entre los bivalvos lo más abundantes fueron los pertenecientes al género *Mactra*. La metodología utilizada representa muy bien la macro-infauna, sin embargo está considerablemente reducido el número de individuos que se observan en la superficie del sustrato (macro y mega-epifauna) macroscópicamente, como los cangrejos de mayor tamaño que rápidamente huyen de la bomba de succión, y los enterrados de mayor tamaño (mega-infauna) como las almejas *E. macha* o *P. abbreviata* que se entierran veloz y fuertemente, entre otros. Otros quizás se encuentran en densidades tan bajas que requieren un mayor número muestral o un área muestral mayor (como los holoturoideos y equiúridos). Las fotografías tomadas *in situ* no resultaron una buena técnica de estimación de esos grupos.

Una posible explicación para las diferencias encontradas entre estaciones en este grupo puede estar dada porque los bancos de bivalvos sean móviles, o el área de asentamiento de los juveniles sea variable en pequeña escala. No se descarta que pueda existir una segregación espacial entre la zona de asentamiento de los juveniles de distintas especies de bivalvos, y por otro lado los correspondientes adultos que tampoco se observan en la zona ni en la dieta de *B. cochlidium*. Nunca se observó a un caracol comiendo un poliqueto, a pesar de su gran abundancia.

9 Discusión general

La estacionalidad reproductiva registrada en la población estudiada de *Buccinanops cochlidium* se relaciona con los cambios de temperatura del agua. Otros factores como la disponibilidad de alimento probablemente también estén afectando a los procesos reproductivos. El grado de dispersión resulta *a priori* reducido en comparación con especies con estadíos larvales libres (Johannesson, 1988). Consecuentemente los juveniles de transcurren las primeras etapas de vida, de mayor riesgo de mortandad, en las zonas donde los adultos han sido reproductivamente exitosos. El hecho de que los juveniles se alimentan generalmente de las presas que consumen los adultos, resulta consistente con lo postulado.

La inversión reproductiva de la hembra incluye la puesta (aproximadamente 450.000 huevos en 150 ovicápsulas) y el cuidado los embriones durante 4 meses hasta su eclosión como juveniles reptantes. Según lo registrado en esta tesis, las hembras podrían no ingerir alimentos durante todo el período; esto implicaría una etapa de gran vulnerabilidad. Estudios experimentales y fisiológico-comportamentales, como los realizados por Brokordt *et al.* (2003), serán realizados *in situ* y en acuarios acondicionados (en el marco de un proyecto posdoctoral) con el fin de confirmar esta hipótesis. Como contraparte, su fecundidad actual se puede expresar como más de 800 juveniles sin fase larval de vida libre y con una concha totalmente desarrollada, de 4 mm de LT en promedio por hembra.

Los huevos nutritivos poseen una funcionalidad nutricional para los embriones. Se desconoce con certeza el origen de los mismos. Los pocos trabajos publicados al respecto acordarían en cuanto a su inviabilidad, aunque no existen evidencias contundentes. Entre las explicaciones propuestas sobresalen: factores genéticos del huevo y fecundación por espermatozoides anormales (Miloslavich y Dufresne, 1994). Es posible agregar como hipótesis la falta de fecundación o fecundación múltiple, así como que huevos retardados (viables) sean ingeridos por sus “hermanos” previamente a su desarrollo. Este es un campo de estudio de la embriología de los moluscos que requiere de mayores esfuerzos e interés; un abordaje complementario genético-bioquímico-experimental podría significar verdaderos avances al respecto.

La ocurrencia del fenómeno de canibalismo intracapsular de otros embriones como fuente de alimento extra-vitelino (además de la adelfofagia típica del género (Penchaszadeh, 1971a)) fue registrada en *B. monilifer*. De la misma manera que en las

otras especies estudiadas del género, un único individuo eclosiona por ovicápsula. De esta manera alcanza tallas de eclosión mayores al promedio registrado en *B. cochlidium*, incluso siendo una especie con una talla máxima muy inferior. Estudios manipulativos del número de embriones en la puesta echarían luz sobre la posible ventaja de ser “hijo único” en una ovicápsula.

Todo el sistema hembra-puesta-camada es un interesante modelo de estudio de inversión y éxito reproductivo en gasterópodos, un grupo en el que existen pocos trabajos al respecto (Perron, 1981; Chaparro *et al.*, 1999; Brokordt *et al.*, 2003). El hallazgo de los ojos en los embriones en estadios avanzados del desarrollo de esta especie visibles abre un campo de investigación sobre la pérdida de ojos en linajes oculados. La pérdida de los ojos se enmarca en el estudio de modelos de desarrollo de órganos de la visión en moluscos gasterópodos (Averbuj y Penchaszadeh, 2008).

El ciclo gametogénico de *Buccinanops cochlidium* observado mediante técnicas histológicas refleja la estacionalidad observada comportamentalmente en el campo. En las hembras este ciclo es marcadamente estacional. La gónada que se encuentra repleta de oocitos al fin del invierno, se vacía casi completamente luego de la oviposición. El número de oocitos/huevos en una puesta es de 450000 aproximadamente, y miden más de 220 μm de diámetro. Los oocitos remanentes (no evacuados) son reabsorbidos. Los machos, en cambio, muestran un ciclo menos acentuado, y por otro lado, su inversión reproductiva es marcadamente menor a la de la hembra. Considerando que la hembra puede contener espermatozoides en la *bursa copulatrix* durante varios meses (marzo-octubre) y que la frecuencia de cópula aumenta previo a la oviposición masiva, se plantea la realización de estudios sobre paternidad múltiple.

La talla de madurez gonádica y comportamental (oviposición) coincide en las hembras, y es de 80 mm de LT de concha. Los machos poseen una talla de madurez gonádica de 37 mm, aunque algunos individuos de 28 mm ya muestran paquetes de espermatozoides en el lumen de los túbulos espermatogénicos. Es posible que la madurez comportamental difiera de este valor, dado que los machos copulando raramente midieron menos de 50 mm. Cambios en el peso u otras variables pueden explicar esta diferencia. Una política adecuada de manejo de esta especie como recurso pesquero debería excluir de las capturas a las hembras portadoras de ovicápsulas que son fácilmente diferenciables durante los períodos de oviposición. También debería considerarse la talla mínima de captura de individuos, al menos superior a 85 mm, considerando aspectos gonádicos y comportamentales de manera que se puedan

reproducir al menos una ó 2 temporadas (Gurney et al., 2005). Machos y hembras resultan difíciles de diferenciar en el campo cuando éstas no portan ovicápsulas. Tallas mayores de captura influirían en una selectividad de las hembras, lo que llevaría a largo plazo a un desbalance en la proporción de sexos, por lo que no se sugeriría como estrategia de manejo. Por otro lado, existe una alta prevalencia de parasitismo, en particular en las clases de tallas entre 70 y 100 mm. Esto sumado al hecho que los parásitos producen castración y reducción de órganos reproductivos, podría tener consecuencias a nivel poblacional que deberían considerarse si se concretara la explotación comercial del recurso.

A pesar de no conocer con certeza la edad máxima de esta especie, su tasa de crecimiento es alta, por lo que alcanzaría las tallas máximas rápidamente. Es probable que una vez alcanzada, los individuos vivan algunos años más, motivo por el cual se ven numerosas marcas de crecimiento depositadas juntas en el margen de la concha. La “performance” o desempeño de crecimiento es menor al de algunas especies de volutidos argentinos (Cledón *et al.*, 2005; Bigatti *et al.*, 2007) pero similar a la de *Buccinum undatum* y *Buccinanops globulosus* (Kideys, 1996; Narvarte *et al.*, 2006) explotados comercialmente.

Este trabajo representa la intención de incentivar el estudio de la biología de los caracoles de este género endémico. La cantidad de información novedosa generada, que incluye aspectos reproductivos (modalidad de alimentación embrionaria, fecundidad, ciclo gametogénico, talla de madurez reproductiva) y ecológicos (perdida de ojos, parasitismo, crecimiento, dieta), es indicador de la escasez de estudios previos en el grupo.

En la sección que se encuentra a continuación se exponen las principales conclusiones obtenidas a partir de los trabajos de investigación desarrollados en el marco de esta tesis.

10 Conclusiones

- Se observó la existencia de un ciclo estacional reproductivo que incluye una etapa de cópula desde marzo hasta octubre, una etapa de oviposición que se superpone con la anterior desde julio hasta noviembre, y una etapa en la que las puestas se desarrollan adheridas a la concha materna desde noviembre hasta la eclosión en febrero. La estacionalidad se relaciona con cambios en la temperatura del agua.
- El tiempo de desarrollo embrionario es de aproximadamente 4 meses, tanto en acuarios como en el campo. La mayor tasa de crecimiento de los embriones tiene lugar en el estadio de “veliger” donde ingieren todos los huevos nutritivos que les resulta posible con la ayuda del velo ciliado. La organogénesis es posterior al llenado del saco gástrico, creciendo hasta un tamaño juvenil reptante de 4 mm.
- La fecundidad promedio de esta especie implica 450.000 huevos de 227 μm de diámetro o su equivalente de más de 800 juveniles sin estadios larvales libres por hembra. El número de ovicápsulas no está relacionado con el tamaño de la hembra. El número de juveniles que eclosionan por ovicápsula es inversamente proporcional a la talla media de eclosión.
- Se encontraron ojos en los embriones en estadios avanzados del desarrollo, visibles como un punto negro bajo la lupa (de 30-40 μm de diámetro). Los ojos se observaron macroscópicamente en juveniles recientemente eclosionados, pero no fueron encontrados en individuos mayores.
- La estructura del ojo embrionario incluye una retina con células fotorreceptoras y de soporte, una lente y un nervio óptico. Aún se desconoce el destino ontogenético de este órgano.
- Los machos están sexualmente activos durante todo el año. Observándose liberación de gametas durante todos los meses del año. No existe reposo reproductivo en ningún sexo, pero sí reabsorción de los espermatozoides

principalmente en primavera (machos) y de los oocitos remanentes durante y luego de la primavera (hembras). Se registró la presencia de estadíos paraespermatogénicos por primera vez en el género *Buccinanops*.

- Según las tallas oocitarias, otoño e invierno (cópula) son estaciones de crecimiento vitelogénico mientras la temperatura del agua descende, primavera (oviposición) de evacuación, y verano (cuidado de las ovcápsulas) de reabsorción y posterior proliferación y crecimiento incipiente.
- La talla de primera madurez gonádica es a los 37 mm en machos, aunque es raro observar individuos menores a 50 mm copulando. En las hembras, la talla de primera madurez de las gónadas coincide con la de oviposición, aproximadamente a los 80 mm. La talla mínima excluyente de captura sugerida es de 85 mm de manera que las hembras puedan reproducirse antes de ser capturadas; debe evitarse la recolección de hembras portando ovcápsulas.
- La proporción de sexos no difirió significativamente de 1:1. Los individuos de ambos sexos son difícilmente diferenciables en el campo, excepto cuando la hembra lleva su puesta, aunque la talla promedio y máxima es menor en los machos que en las hembras. Internamente se diferencian por la presencia del pene y vaso deferente en machos y glándulas sexuales accesorias en hembras, además del color de las gónadas (marrón y blanco respectivamente).
- En las poblaciones estudiadas del golfo San José no se registró imposex. En ejemplares de *Buccinanops cochlidium* de Mar del Plata, en un área portuaria con alto tránsito de embarcaciones protegidas con pinturas anti-incrustantes (que contienen TBT), sí se observaron evidencias que confirman la susceptibilidad de la especie y la relación del fenómeno con el tráfico marítimo.
- Se registró la ocurrencia de un único parásito en gónadas y glándula digestiva de *Buccinanops cochlidium*. Corresponde a un trematode digeneo en estadío de redia con cercarias en distintos estadíos de desarrollo, pertenecientes a la familia

Lepocreadiidae. La cercaria (tricocerca oculada) es similar morfológicamente con la descrita para *B. monilifer* de provincia de Buenos Aires.

- La prevalencia de parásitos fue del 15,6 %, afectando a machos y hembras indistintamente. El parásito provoca castración y reducción de órganos reproductivos accesorios en ambos sexos. Se registraron parásitos durante todo el año, pero con una mayor emisión de cercarias maduras en los meses de primavera y verano (en coincidencia con el aumento de temperatura del agua).
- Una evaluación preliminar de la población de golfo San José indicó densidades de adultos de 0,4 m² y considerando los juveniles asciende a 1,09 m² (por método de cuadrantes al azar). Se estima una población de aproximadamente 13.000 individuos por el método de marcado y recaptura (Petersen) en el área de estudio.
- La ultraestructura interna de las conchas está constituida por 3 capas de carbonato de calcio de distinto espesor y arreglo. Las marcas de crecimiento aparecen al desviarse hacia el exterior el sentido del depósito de CaCO₃. Estas marcas ocurren en el margen de la concha de individuos mayores a 50 mm y son depositadas estacionalmente entre junio y noviembre, con temperaturas menores a 13°C. En base al estudio de isótopos estables de O¹⁸ y al número de marcas por individuo, la edad modal sería de 6 a 7 años, y un máximo de 11. Es preciso ampliar el estudio con individuos de mayor tamaño y de ambos sexos.
- La técnica de marcado resultó efectiva a corto y mediano plazo (más de 2 años y casi 9 % de recapturas). Machos y hembras crecen a una misma tasa promedio de 1,71·10⁻³ día⁻¹ o 0,62 año⁻¹, pero alcanzan tallas máximas diferentes de 88 y 96 mm respectivamente. El máximo incremento registrado fue de 9,5·10⁻³ mm/día en una hembra marcada a los 69,8 mm.
- La especie estudiada es carnívora oportunista y se alimenta principalmente de moluscos bivalvos. Su dieta incluye también otros grupos como holoturios, equiúridos y carroña, incluyendo canibalismo. Las presas son ingeridas vivas

(cuando son menores en talla), débiles o muertas, mediante la inserción de la probóscide y acción mecánica de la rádula.

- *Buccinanops cochlidium* es una especie clave en las comunidades donde habita, como depredador y carroñero. No es una especie tope de la cadena trófica, ya que se reportaron depredadores de individuos y sus ovicápsulas. Principalmente el gasterópodo *Odontocymbiola magellanica*, la anémona *Antholoba achates*, y algunos cangrejos (*Leurocyclus tuberculatus* y *Peltarion spinolosum*). Éstos son además competidores por el recurso alimenticio de *B. cochlidium*.

11 Bibliografía

- Abades Torres, S., Cortes Matamala, N., Chong Lay-Son, J., Richardson, C., Contreras Quintana, S., y García Mena, C. 2001. Estudio de edad y crecimiento de los recursos huepo y navajuela en la VIII Región, Universidad Católica de la Santísima Concepción. 82 pp.
- Abbott, R.T. y Dance, S.P. 1986. Compendium of Seashells. American Malacologists Inc., Melbourne, Florida. USA. 411 pp.
- Acuña, F.H., Excoffon, A.C., y Scelzo, M.A. 2003. Mutualism between the sea anemone *Antholoba achates* (Drayton, 1846) (Cnidaria: Actiniaria: Actinostolidae) and the spider crab *Libinia spinosa* Milne-Edwards, 1834 (Crustacea: Decapoda, Majidae). Belgian journal of Zoology **133**(1): 85-87.
- Allmon, W.D. 1990. A review of the *Bullia* group (Gastropoda: Nassariidae) with comments on its evolution, biogeography, and phylogeny. Bulletin of American Paleontology **99**(335): 1-179.
- Amoroso, R. 2003. Heterogeneidad espacial en la dinámica de la metapoblación de vieira tehuelche (*Aequipecten tehuelchus*) del golfo San José, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Puerto Madryn. 55 pp.
- Ansell, A.D., y Trevallion, A. 1970. Brood protection in the stenoglossan gastropod *Bullia melanoides* (Deshayes). Journal of Natural History **4**: 369-374.
- Antares-Nasa. 2008. Imágenes satelitales de ecosistemas costeros latinoamericanos. Disponible en: <http://www.antares.ws> [acceso: 05 de noviembre 2008].
- Arendt, D. 2003. Evolution of eyes and photoreceptor cell types. The International Journal of Developmental Biology **47**: 563-571.
- Averbuj, A., y Penchaszadeh, P.E. 2008. The genus *Buccinanops*: A model for eye loss in caenogastropods*. American Malacological Bulletin **26**(1/2): 67-71.
- Barnard, K.H. 1958. Contributions to the knowledge of South African marine mollusca. Part 1. Gastropoda: Prosobranchiata: Toxoglossa. Annals of the South African Museum **44**(4): 73-163.
- Barreiro, R., González, R., Quintela, M. y Ruiz, J.M. 2001. Imposéx, organotin bioaccumulation and sterility of female *Nassarius reticulatus* in polluted areas of NW Spain. Marine Ecology Progress Series **218**: 203-212.
- Bartoli, P. 1978. Modification de la croissance et du comportement de *Venerupis aurea* parasité par *Gymnophallus fossarum* P. Bartoli, 1965 (Trematoda, Digenea). Haliotis **7**: 23-28.

- Beesley, P.L. 1998. Mollusca: The Southern Synthesis. En: Fauna of Australia. Ross, G.J.B. y Wells, A. (Eds.), CSIRO Publishing Melbourne. **2**: 563-1234.
- Bever, M.M., y Borgens, R.B. 2005. Eye regeneration in the mystery snail. *Journal of Experimental Zoology* **245**: 33-42.
- Bieler, R. 1992. Gastropod phylogeny and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **23**: 311-338.
- Bigatti, G. 2005. Anatomía, ecología y reproducción del caracol rojo *Odontocymbiola magellanica* (Gastropoda: Volutidae) en golfos norpatagónicos. Tesis Doctoral de la Universidad de Buenos Aires, U.B.A., Buenos Aires. 177 pp.
- Bigatti, G., y Ciocco, N.F. 2008. Volutid snails as an alternative resource for artisanal fisheries in Northern Patagonic gulfs: availability and first suggestions for diving catches. *Journal of Shellfish research* **27**(2): 417-421.
- Bigatti, G., Marzinelli, E.M., y Penchaszadeh, P.E. 2008. Seasonal reproduction and sexual maturity in *Odontocymbiola magellanica* (Neogastropoda, Volutidae). *Invertebrate Biology* **127**(3): 314-326.
- Bigatti, G., Penchaszadeh, P.E., y Cledón, M. 2007. Age and growth in *Odontocymbiola magellanica* (Gastropoda: Volutidae) from Golfo Nuevo, Patagonia, Argentina. *Marine Biology* **150**: 1199-1204.
- Bigatti, G., Primost, M., Cledón, M., Averbuj, A., Theobald, N., Gerwinski, W., Arntz, W., Morriconi, E., y Penchaszadeh, P.E. (en prensa, a). Contamination by TBT and imposex biomonitoring along 4700 km of Argentinean shoreline (SW Atlantic: from 38°S to 54°S). *Marine Pollution Bulletin*.
- Blaber, S.J.M. 1970. The occurrence of a penis-like outgrowth behind the right tentacle in spent females of *Nucella lapillus* (L.). *Proceedings of the malacological Society of London* **39**: 231-233.
- Blumer, M.J.F. 1996. Alterations of the eyes during ontogenesis in *Aporrhais pespelecani* (Mollusca, Caenogastropoda). *Zoomorphology* **116**: 123-131.
- 1998. Alterations of the eyes of *Carinaria lamarcki* (Gastropoda, Heteropoda) during the long pelagic cycle. *Zoomorphology* **118**: 183-194.
- Borzzone, C.A. 1995. Ovicápsulas de prosobranquios (Mollusca: Gastropoda) de una playa arenosa expuesta del sur de Brasil. *Iheringia, Sér. Zool.*, **79**: 47-58.
- Boss, K.J. 1971. Critical estimate of the number of Recent Mollusca. *Occasional Papers on Mollusks Museum Comparative Zoology. Harvard University* **3**: 81-135.

- Bretos, M., y Jiron, C. 1980. Trematods in Chilean fissurellid molluscs. *The Veliger* **22**: 293.
- Brey, T. 1990. Estimating productivity of macrobenthic invertebrates from biomass and mean individual weight. *Meeresforschung / Reports on Marine Research* **32**: 329-343.
- 1999. Growth performance and mortality in aquatic benthic invertebrates. *Advances in Marine Biology* **35**: 153-223.
- Brokordt, K.B., Guderley, H.E., Guay, M., Gaymer, C.F., y Himmelman, J.H. 2003. Sex differences in reproductive investment: maternal care reduces escape response capacity in the whelk *Buccinum undatum*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **4150**: 1-21.
- Brooks, R.C., Heidinger, R.C., y Kohler, C.C. 1994. Mass-marking otoliths of larval and juvenile walleyes by immersion in oxytetracycline, calcein or calcein blue. *North American Journal of Fisheries Management* **14**: 143-150.
- Brown, A.C. 1971. The ecology of the sandy beaches of the Cape Peninsula, South Africa. Part 2: the mode of life of *Bullia* (Gastropoda: Prosobranchiata). *Transaction Royal Society of South Africa* **39**: 281-361.
- 1979. The energy cost and efficiency of burrowing in the sandy-beach whelk *Bullia digitalis* (Dillwyn) (Nassariidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **40**: 149-154.
- 1982. The biology of sandy beach whelks of the genus *Bullia* (Nassariidae). *Oceanographic Marine Biology Annual Review* **20**: 309-361.
- 1985. Egg capsules and young of *Bullia tenuis* (Nassariidae). *Journal of Molluscan Studies* **51**(1): 100.
- Bryan, G.W., Gibbs, P.E., Burt, G.R., y Hummerstone, L.G. 1986. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around South-West England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **66**: 611-640.
- Bryan, G.W., Gibbs, P.E., Burt, G.R., y Hummerstone, L.G. 1987. The effects of tributyltin (TBT) accumulation on adult dogwhelks, *Nucella lapillus*: long-term field and laboratory experiments. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **67**: 525-544.
- Buckland-Nicks, J. 1998. Prosobranch parasperm: sterile germ cells that promote paternity? *Micron* **29**(4): 267-280.
- Calow, P. 1983. Life-cycle patterns and evolution. En: *The Mollusca: Ecology*. W.D. Russell-Hunter (Ed.). Academic Press New York. pp. 649-678.

- Carcelles, A., y Parodiz, J.J. 1939. Dorsaninae argentinas y uruguayas. *Physis* **17**: 745-769.
- Carriker, M.R. 1981. Shell penetration and feeding by naticacean and muricacean predatory gastropods: A synthesis. *Malacologia* **20**(2): 403-422.
- Cernohorsky, W.O. 1984. Systematics of the family Nassariidae (Mollusca: Gastropoda). Auckland Institute and Museum, Auckland, New Zealand. 356 pp.
- Cerrato, R.M. 1980. Demographic analysis of bivalve populations. En: Skeletal growth of aquatic organisms. D.C. Rhoads y R.A. Lutz (Ed.). Plenum Press, New York. pp. 417-465.
- Cespuglio, G., Piccinetti, C., y Longinelli, A. 1999. Oxygen and carbon isotope profiles from *Nassa mutabilis* shells (Gastropoda): accretion rates and biological behaviour. *Marine Biology* **135**: 627-634.
- Chaparro, R., y Paschke, K.A. 1990. Nurse egg feeding and energy balance in embryos of *Crepidula dilatata* (Gastropoda: Calyptraeidae) during intracapsular development. *Marine Ecology Progress Series* **65**: 183-191.
- Chaparro, O.R., Oyarzun, R.F., Vergara, A.M., y Thompson, R.J. 1999. Energy investment in nurse eggs and egg capsules in *Crepidula dilatata* Lamarck (Gastropoda, Calyptraeidae) and its influence on the hatching size of the juvenile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **232**: 261-274.
- Cheng, T.C., y Rifkin, E. 1970. Cellular reactions in marine molluscs in response to helminth parasitism. *American Fisheries Society* **5**: 443-496.
- Ciocco, N.F. 1999. Relevamiento y sistematización de información sobre mariscos de interés para la pesca artesanal en las costas de Chubut. Consejo Federal de Inversiones, Pcia. del Chubut. 278 pp.
- Cledón, M., y Penchaszadeh, P.E. 2001. Reproduction and brooding of *Crepidula argentina*, Simone, Pastorino y Penchaszadeh, 2000 (Gastropoda: Calyptraeidae). *The Nautilus* **115**(1): 15-21.
- Cledón, M., Arntz, W., y Penchaszadeh, P.E. 2005a. Gonadal cycle in an *Adelomelon brasiliiana* (Neogastropoda: Volutidae) population of Buenos Aires province, Argentina. *Marine Biology* **147**: 439-445.
- 2008. Size and age at sexual maturity in *Adelomelon brasiliiana* (Neogastropoda: Volutidae) off Argentina. *Journal of Marine Biology Association of the U.K.* **147**(2): 447-452.

- Cledón, M., Brey, T., Penchaszadeh, P.E., y Arntz, W. 2005b. Individual growth and somatic production in *Adelomelon brasiliiana* (Gastropoda; Volutidae) off Argentina. *Marine Biology* **147**: 447–452.
- Clutton-Brock, T.H. 1991. The evolution of parental care. Princeton University Press, New York. 350 pp.
- Collin, R. 2000. Phylogeny of the *Crepidula plana* (Gastropoda: Calyptraeidae) cryptic species complex in North America. *Canadian Journal of Zoology* **78**: 1500-1514.
- Cremonete, F., Kroeck, M.A., y Martorelli, S.R. 2001. A new monorchid cercaria (Digenea) parasitising the purple clam *Amiantis purpurata* (Bivalvia: Veneridae) in the South West Atlantic Ocean: with notes on its gonadal effects. *Folia Parasitologica* **482**: 217-223.
- Cremonete, F., y Sardella, N.H. 1997. The parasito fauna of *Scomber japonicus* Hottuy, 1782 (Pisces: Scombridae) in two zones of the Argentine Sea. *Fisheries Research* **31**(1-2): 1-9.
- Crichton, M.D. 1943. Some notes on the Madras *Bullia*. *Journal of Molluscan Studies* **25**(4): 143-146.
- d'Orbigny, A.D. 1834-1847. *Buccinanops*. En: Voyage dans l'Amerique Meridionale (Le Bresil, La Republique Orientale de L'Uruguay, La Republique Argentine, La Patagonie, La Republique du Chili, La Republique de Bolivia, La Republique du Perou), execute pendant les annees 1826-1833. Paris (Bertrand), Strasbourg (Levrault). 758 pp.
- da Silva, F.M., y Brown, A.C. 1984. The gardens of the sandy-beach whelk *Bullia digitalis* (Dillwyn). *Journal of Molluscan Studies* **50**: 64-65.
- 1985. Egg capsules and veligers of the whelk *Bullia digitalis* (Gastropoda: Nassariidae). *The Veliger* **28**(2): 200-203.
- Daleo, P., Escapa, M., Isacch, J.P., Ribeiro, P., y O. Iribarne. 2005. Trophic facilitation by the oystercatcher *Haematopus palliatus* Temminck on the scavenger snail *Buccinanops globulosum* Kiener in a Patagonian bay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **325**: 27–34.
- D'Asaro, C.N. 1970a. Egg capsules of prosobranch mollusks from South Florida and the Bahamas and notes on spawning in the laboratory. *Bulletin of Marine Sciences* **20**: 414-440.
- 1970b. Egg capsules of some prosobranchs from the pacific coast of Panama. *The Veliger* **13**(1): 37-43.
- 1988. Micromorphology of neogastropod egg capsules. *The Nautilus* **102**(4): 134-148.

- de Mahieu, G., Penchaszadeh, P.E., y Casal, A.B. 1974. Algunos aspectos de las variaciones de proteínas y aminoácidos libres totales del líquido intracapsular en relación al desarrollo embrionario en *Adelomelon brasiliana* (Lamark, 1811) (Gastropoda, Prosobranchia, Volutidae). *Cahiers de Biologie Marine* **15**: 215-227.
- de Mora, S.J., King, N.G., y Miller, M.C. 1989. Tributyltin and total tin in marine sediments: profiles and the apparent rate of TBT degradation. *Environmental Technology Letters* **10**: 901-908.
- Ekaratne, S.U.K., y Crisp, D.J. 1982. Tidal micro-growth bands in intertidal gastropod shells, with an evaluation of band-dating techniques. *Proceedings of the Royal Society of London* **214**: 305-323.
- Epstein, S., y Lowenstam, H.A. 1953. Temperature shell-growth relation of recent and interglacial Pleistocene shoal-water biota from Bermuda. *Journal of Geology* **61**: 424-438.
- Evans, J. 1972. Tidal growth increments in the cockle *Clinocardium nuttalli*. *Science* **176**: 416-417.
- Evans, S.M., y Nicholson, G.J. 2000. The use of imposex to assess tributyltin contamination in coastal waters and open seas. *The science of the total environment* **258**: 73-80.
- Fiorda, P. 2008. Comparación de metodologías para el análisis del crecimiento individual en base a datos de marca recaptura. Aplicación a una población del caracol *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) en Chile. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Puerto Madryn. 44 pp.
- Fioroni, P. 1966. Zur morphologie und embryogenese des darmtraktes und der transitorischen orange bei prosobranchiern. *Revue Suisse de Zoologie* **73**(44): 621-873.
- 1967. Quelques aspects de l'embryogenèse des prosobranches (Mollusca, Gastropoda). *Vie et Milieu* **18**(1 A): 153-174.
- Frank, P.W. 1969. Growth rates and longevity of some gastropod mollusks on the coral reef at Heron Island. *Oecologia* **2**(2): 232-250.
- Fretter, V., y Graham, A. 1994. *British Prosobranch Molluscs: Their functional anatomy and ecology*. The Ray Society of London, U.K., London. 589 pp.
- Fried, B., y Graczyk, T.K. 1997. *Advances in Trematode biology*. CRC Press, New York. 466 pp.
- Fritz, L.W. 2001. Shell structure and age determination. En: *Biology of the Hard Clam*. Kraeuter y Castagna (Ed.). *Developmental in Aquaculture and Fisheries Sciences*, Amsterdam. pp. 53-76.

- Gage, J.D., y Tyler, P.A. 1985. Growth and recruitment of the deep-sea urchin *Echinus affinis*. *Marine Biology* **90**: 41-53.
- Galaktionov, K.V., y Dobrovolskij, A.A. 2003. The biology and evolution of trematodes. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands. 592 pp.
- Gallardo, C.S. 1989. Patrones de reproducción y ciclo vital en moluscos marinos bénticos. Una aproximación ecológico evolutiva. *Medio Ambiente* **10**(2): 25-35.
- Gallardo, C.S., y Penchaszadeh, P.E. 2001. Hatching mode and latitude in marine gastropods: revisiting Thorson's paradigm in the southern hemisphere. *Marine Biology* **138**: 547-552.
- Gaspar, M.B., Pereira, A.M., Vasconcelos, P., y Monteiro, C.C. 2004. Age and growth of *Chamelea gallina* from the Algarve coast (Southern Portugal): Influence of the seawater temperature and gametogenic cycle on growth rate. *Journal of Molluscan Studies* **70**(4): 371-377.
- Gendron, L. 1992. Determination of the size at sexual maturity of the waved whelk *Buccinum undatum* Linnaeus, 1758, in the Gulf of St. Lawrence, as a basis for the establishment of a minimum catchable size. *Journal Shellfish Research* **11**: 1-7.
- Gibbs, P.E. 1996. Oviduct malformation as a sterilising effect of tributyltin (TBT)- induced imposex in *Ocenebra erinacea* (Gastropoda: Muricidae). *Journal of Molluscan Studies* **62**: 403-413.
- Gibbs, P.E., y Bryan, G.W. 1994. Chapter 9. Biomonitoring of Tributyltin (TBT) Pollution using the Imposex Response of Neogastropod Molluscs. En: *Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries*. K.J.M. Kramer (Ed.), Boca Ratón. pp. 205-226.
- Gibson, B.L. 1984. Cellular and ultrastructural features of the regenerating adult eye in the marine gastropod *Ilyanassa obsoleta*. *Journal of Morphology* **180**: 145-157.
- Giese, A.C. 1959. Comparative physiology: Annual reproductive cycles of marine invertebrates. *Annual Review of Physiology* **21**: 547-576.
- Giese, A.C., y Pearse, J.S. 1974. Introduction: General Principles. En: *Reproduction of Marine Invertebrates*. A.C. Giese y J.S. Pearse (Eds.). Academic Press, New York. pp. 1-49.
- 1977. Molluscs: gastropods and cephalopods. En: *Reproduction of Marine Invertebrates*. A.C. Giese y J.S. Pearse (Eds.). Academic Press, New York. pp. 50–102.
- Giménez, J., y Penchaszadeh, P.E. 2002. Reproductive cycle of *Zidona dufresnei* (Caenogastropoda: Volutidae) from the southwestern Atlantic Ocean. *Marine Biology* **140**: 755-761.

- . 2003. Size at first sexual maturity in *Zidona dufresnei* (Caenogastropoda: Volutidae) of the south-western Atlantic Ocean (Mar del Plata, Argentina). *Journal of Marine Biology Association of the UK* **83**: 293-296.
- Giménez, J., Brey, T., Mackensen, A., y Penchaszadeh, P.E. 2004. Age, growth, and mortality of the prosobranch *Zidona dufresnei* (Donovan, 1823) in the Mar del Plata area, south-western Atlantic Ocean. *Marine Biology* **145**: 707-712.
- Giménez, J., Lasta, M., Bigatti, G., y Penchaszadeh, P.E. 2005. Exploitation of the volute snail *Zidona dufresnei* in Argentine waters, southwestern Atlantic Ocean. *Journal of Shellfish Research* **24**(4): 1135-1140.
- Ginetsinskaya, T.A. 1988. Trematodes, their life cycles, biology and evolution. Amerind Publishing Co., New Delhi. 549 pp.
- Goldberg, R., Averbuj, A., Cledón, M., Luzzatto, D., y Nudelman, N.S. 2004. Search for triorganotins along the Mar del Plata (Argentina) marine coast: finding of tributyltin in egg capsules of a snail *Adelomelon brasiliiana* (Lamarck, 1822) population showing imposex effects. *Applied Organometallic Chemistry* **18**: 117-123.
- Graham. 1955. Molluscan Diets. *Proceedings of the malacological Society of London* **31**(34): 144.
- Gurney, L.J., Mundy, C., y Porteus, M.C. 2005. Determining age and growth of abalone using stable oxygen isotopes: a tool for fisheries management. *Fisheries Research* **72**: 353-360.
- Hall, C.J., Dollase, W., y Corbato, C. 1974. Shell growth in *Tivela stultorum* (Mawe, 1823) and *Callista chione* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia): annual periodicity, latitudinal differences, and diminution with age. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **15**: 33-61.
- Haller, M.J., Monti, A.J., y Meister, C.M. 2001. Hoja Geológica 4363-I: Península Valdés, Provincia del Chubut. En: Programa Nacional de Cartas Geológicas de la República Argentina. Secretaría de Energía y Minería, Servicio Geológico Minero Argentino, Buenos Aires, Argentina. pp. 1-34.
- Harasewych, M.G. 1998. Family Nassariidae. En: *Mollusca: The Southern Synthesis. Fauna of Australia*. P.L. Beesley, Ross, G.J.B. y Wells, A. (Eds.) CSIRO Publishing, Melbourne. pp. 829-831.
- Hargitai, R., Torok, J., Toth, L., Hegyi, G., Rozivall, V., Szigeti, B., y Szollosi, E. 2005. Effects of environmental conditions and parental quality on inter- and intraclutch egg-size variation in the collared flycatcher (*Ficedula albicollis*). *The Auk* **122**(2): 509-522.
- Healy, J.M., y Jamieson, B.G. 1981. An ultrastructural examination of developing and mature paraespermatozoa in *Pyrazeus ebenius* (Mollusca, Gastropoda, Potamididae). *Zoomorphology* **98**: 101-119.

- Heller, J. 1993. Hermaphroditism in molluscs. *Biological Journal of the Linnean Society* **48**(1): 19-42.
- Heller, J., Pimstein, P., y Vaginsky, P. 1991. Cave-dwelling *Cecilioides genezarethensis* (Pulmonata, Ferussaciidae) from Israel. *Journal of Molluscan Studies* **57**: 289-293.
- Henry, P.-Y., y Jarne, P. 2007. Marking hard-shelled gastropods: tag loss, impact on life-history traits, and perspectives in biology. *Invertebrate Biology* **126**(2): 138-153.
- Hickman, C.S. 1988. Archaeogastropod evolution phylogeny and systematics: a re-evaluation. *Malacological review* **4**: 17-34.
- Himmelman, J.H. 1988. Movement of whelks *Buccinum undatum* towards a baited trap. *Marine Biology* **97**: 521-531.
- Hirase, S. 1931. The adaptative modifications of the gastropod *Stilifer oelebexsis* Kukenthal, parasitic on the starfish *Certokardoa semiregularis* (Muller y Troschel). *Proceedings of the Malacological Society of London* **20**: 73-78.
- Hyman, H. 1967. The invertebrates. Mollusca. Aplacophora, Polyplacophora, Monoplacophora, Gastropoda. The coelomate bilateria. McGraw-Hill, New York. 792 pp.
- Ilano, A.S., Fujinaga, K., y Nakao, S. 2003. Reproductive cycle and size at sexual maturity of the commercial whelk *Buccinum isaotakii* in Funka Bay, Hokkaido, Japan. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom* **83**: 1287-1294.
- 2004. Mating, development and effects of female size on offspring number and size in the neogastropod *Buccinum isaotakii* (Kira, 1959). *Journal of Molluscan Studies* **70**: 277-282.
- Iribarne, O., Fernandez, M., Diaz, M., y Clemente, M. 1993. Prey attack by the Patagonian octopus *Octopus tehuelchus* d'Orbigny: an odd pattern. *The Veliger* **36**(2): 199-200.
- Iribarne, O., Fernandez, M.E., y Zucchini, H. 1991. Prey selection by the small patagonian octopus *Octopus tehuelchus* d'Orbigny. *Journal of Experimental of Marine Biology and Ecology* **148**: 271-281.
- Johannesson, K. 1988. The paradox of Rockall: why is a brooding gastropod (*Littorina saxatilis*) more widespread than one having a planktonic larval dispersal stage (*L. littorea*)? *Marine Biology* **99**: 507-513.
- Jones, C. 1985. Within-season differences in growth of larval Atlantic herring, *Clupea harengus harengus*. *Fisheries Bulletin* **85**(3): 289-298.

- Jong-Brink, M., Boer, H.H., y Joose, J. 1983. 14. Mollusca - Oogenesis, Oviposition and Oosorption. En: Reproductive Biology of Invertebrates. K.y R. Gomez de Adiyodi (Eds.). John Wiley & Sons, Amsterdam. pp. 297-355.
- Kano, Y., y Kase, T. 2002. Anatomy and systematics of the submarine-cave gastropod *Pisulina* (Neritopsina: Neritiliidae). *Journal of Molluscan Studies* **68**: 365-384.
- Kantor, Y.I. 1995. Phylogeny and relationship of Neogastropoda. En: Origin and Evolutionary radiation of the Mollusca. J.D. Taylor (Ed.). Oxford University Press, Oxford. pp. 221-230.
- Kideys, A.E. 1996. Determination of age and growth of *Buccinum undatum* L. (Gastropoda, Prosobranchia) off Douglas, Isle of Man. *Helgolander Meeresunters* **50**: 353–368.
- Kohn, A.J. 1985. Gastropod paleoecology. En: Mollusks. Notes for a short course. T.W. Broadhead (Ed.). University of Tennessee. Department of geological sciences. Studies in Geology. Knoxville: University of Tennessee. pp. 174-189.
- Koie, M. 1969. On the endoparasites of *Buccinum undatum* L. with special reference to the trematodes. *Ophelia* **6**: 251-279.
- 1975. On the morphology and life-history of *Opechona bacillaris* (Molin, 1859) Looss, 1907 (Trematoda, Lepocreadiidae). *Ophelia* **13**: 63-86.
- Köppen, W., y Geiger, R. 1954. *Klima der Erde.*, Darmstadt, Deutschland.
- Lauckner, G. 1980. Diseases of mollusca: gastropoda. En: Diseases of marine animals: General aspects, protozoa to gastropoda. O. Kinne (Ed.). Wiley-Interscience, Salisbury. 466 pp.
- Laudien, J. 2002. Population dynamics and ecology of the surf clam *Donax serra* (Bivalvia, Donacidae) inhabiting beaches of the Benguela upwelling system. *Reports on Polar and Marine Research* **432**: 112.
- Leiva, G.E., y Castilla, J.C. 2002. A review of the world marine gastropod fishery: evolution of catches, management and the Chilean experience. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **11**: 283-300.
- Lutz, R.A., y Rhoads, D.C. 1980. Growth patterns within the molluscan shell: an overview. En: Skeletal growth of aquatic organisms. (Ed.) Plenum Press, New York. pp. 203-254.
- Luzzatto, D., y Pastorino, G. 2006. *Adelomelon brasiliiana* and *Antholoba achatas*: a phoretic association between a volutid gastropod and a sea anemone in Argentine waters. *Bulletin of Marine Sciences* **78**(2): 281-286.

- Martel, A., Larrivée, D.H., y Himmelman, J.H. 1986a. Behaviour and timing of copulation and egg-laying in the neogastropod *Buccinum undatum* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **96**: 27-42.
- Martel, A., Larrivée, D.H., Klein, K.R., y Himmelman, J.H. 1986b. Reproductive cycle and seasonal feeding activity of the neogastropod *Buccinum undatum*. *Marine Biology* **92**: 211-221.
- Martorelli, S.R. 1991. Primera cita de una cercaria tricocerca parasita de *Dorsanum moniliferum* (Mollusca: Buccinidae) para el Atlántico sud-occidental. Aportes al conocimiento de su ciclo de vida. *Neotropica* **37**(97): 57-65.
- McGwynne, L.E., y Van der Horst, G. 1985. Patterns of reproduction in three sandy beach whelks of the genus *Bullia* Griffith. *Journal of Molluscan Studies* **51**: 190-197.
- McLahlan, A. y Brown, A. J. 2006. The ecology of sandy shores. Academic Press - Elsevier, California, USA. 192 pp.
- Mikkelsen, P.M. 2002. Shelled opisthobranchs. *Advances in Marine Biology* **42**: 67-136.
- Miloslavich, P. 1995. A morphological, biochemical and electrophoretic study of the embryonic development in temperate and tropical prosobranch. Departement d'Océanographie, Tesis Doctoral de la Université du Québec, Canadá. 129 pp.
- 1996. Biochemical composition of prosobranch egg capsules. *Journal of Molluscan Studies* **62**: 133-135.
- 1999. Nutritional value of the intracapsular liquid of *Engoniophos uncinatus* Say, 1825 (Caenopastropoda: Buccinidae). *Journal of Molluscan Studies* **65**: 502-503.
- Miloslavich, P., y Dufresne, L. 1994. Development and effect of female size on egg and juvenile production in the neogastropod *Buccinum cyaneum* from the Saguenay Fjord. *Can Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**(12): 2867-2872.
- Miloslavich, P., y Penchaszadeh, P.E. 2001. Adelphophagy and cannibalism during early development of *Crucibulum auricula* (Gmelin, 1791) (Gastropoda: Calyptraeidae) from the Venezuelan Caribbean. *The Nautilus* **115**(2): 39-44.
- Morton, B. 2002. Observations on the feeding behaviour of *Nassarius clarus* (Gastropoda: Nassariidae) in Shark Bay, Western Australia. *Molluscan Research* **23**(23): 239-249.
- Morton, B. 2006. Scavenging behaviour by *Ergalatax contractus* (Gastropoda: Muricidae) and interactions with *Nassarius nodifer* (Gastropoda: Nassariidae) in the Cape d'Aguilar Marine Reserve, Hong Kong. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom* **86**: 141-152.

- Morton, B., y Britton, J.C. 2002. Holothurian feeding by *Nassarius dorsatus* on a beach in Western Australia. *Journal of Molluscan Studies* **68**: 187-189.
- 2003. The behaviour and feeding ecology of a suite of gastropod scavengers at Watering Cove, Burrup Peninsula, Western Australia. En: *The Marine Flora and Fauna of Dampier, Western Australia*. F.E. Wells, D.I. Walker y D.S. Jones (Eds.). Western Australian Museum, Perth. pp. 1-19.
- Morton, B., y Chan, K. 1997. First report of shell boring predation by a member of the Nassariidae (Gastropoda). *Journal of Molluscan Studies* **63**: 476-478.
- 2003. The natural diet and degree of hunger of *Nassarius festivus* (Gastropoda: Nassariidae) on three beaches in Hong Kong. *Journal of Molluscan Studies* **69**: 392-395.
- Navarrete, A.d.J. 2001. Crecimiento del caracol *Strombus gigas* (Gastropoda: Strombidae) en cuatro ambientes de Quintana Roo, México. *Revista de Biología Tropical Marina* **49**(1): 85-91.
- Narvarte, M.A. 2006. Biology and fishery of the whelk *Buccinanops globulosum* (Kiener, 1834) in northern coastal waters of the San Matías Gulf (Patagonia, Argentina). *Fisheries Research* **77**: 131-137.
- Neter, J., Kutner, M.H., Nachtshein, C.J., y Wasserman, W. 1996. Building the regression model III: remedial measures and validation. En: *Applied linear statistical models*. Irwin (Eds.). 1396 pp.
- Ojeda, J.A., y Chaparro, O.R. 2004. Morphological, gravimetric, and biochemical changes in *Crepidula fecunda* (Gastropoda: Calyptraeidae) egg capsule walls during embryonic development. *Marine Biology* **144**: 263-269.
- Oliver, P.G. 1980. Growth lines in Polychaete jaws (teeth). En: *Skeletal Growth of Aquatic Organisms*. (Ed.) Plenum Press, New York. pp. 561-594.
- Olson, M.H., y Mittelbach, G.G. 1995. Competition between predator and prey: resource-based mechanisms and implications for stage-structured dynamics. *Ecology* **76**(6): 1758-1771.
- Pastorino, G. 1993a. The association between the gastropod *Buccinanops cochlidium* (Dillwyn, 1817) and the sea anemone *Phlyctenanthus australis* Carlgren, 1949 in Patagonian shallow waters. *The Nautilus* **106**(4): 152-154.
- 1993b. The taxonomic status of *Buccinanops* d'Orbigny, 1841 (Gastropoda: Nassariidae). *The Veliger* **36**(23): 160-165.
- 2005. A revision of the genus *Trophon* Montfort, 1810 (Gastropoda: Muricidae) from southern South America. *The Nautilus* **119**(2): 55-82.

- 2007. Sexual dimorphism in shells of the southwestern Atlantic gastropod *Olivella plata* (Ihering, 1908) (Gastropoda: Olividae). *Journal of Molluscan Studies* (doi:10.1093/mollus/eym024): 1-3.
- Pechenik, J.A. 1975. The escape of veligers from egg capsules of *Nassarius obsoletus* and *Nassarius trivittatus* (Gastropoda, Prosobranchia). *Biological Bulletin* **149**: 580-589.
- 1979. Role of encapsulation in invertebrate life histories. *American Naturalist* **114**(6): 859-870.
- 1986. The encapsulation of eggs and embryos by molluscs: an overview. *American Malacological Bulletin* **4**(2): 165-172.
- 1990. Delayed metamorphosis by larvae of benthic marine invertebrates: Does it occur? Is there a price to pay? *Ophelia* **32**(1-2): 63-94.
- Penchaszadeh, P.E. 1971a. Aspectos de la embriogénesis de algunos gasterópodos del género *Buccinanops* d'Orbigny, 1841 (Gastropoda, Prosobranchiata, Buccinidae). *Physis* **30**(81): 475-482.
- 1971b. Observaciones sobre la reproducción y ecología de *Dorsanum moniliferum* (Valenciennes, 1834) (Gastropoda: Buccinidae) en la región de Mar del Plata. *Neotropica* **17**(53): 49-54.
- 1973. Nuevas observaciones sobre la reproducción de *Buccinanops gradatum* (Deshayes, 1844) (Gastropoda: Prosobranchiata, Dorsaninae). *Physis Seccion A* **32**(84): 15-18.
- 1976. Reproducción de Gasterópodos prosobranquios del Atlántico suroccidental. El género *Trophon*. *Physis* **35**(90): 69-76.
- Penchaszadeh, P.E., y Paredes, C. 1996. Observations on the spawn of *Fasciolaria tulipa hollisteri* (Weisbord 1962) (Gastropoda: Prosobranchia) from the Southern Caribbean. *Malacological Review Supplement* **6**: 9-14.
- Penchaszadeh, P.E., y Rincón, A. 1996. Egg capsules and development of *Prunum prunum* (Gmelin, 1791) (Prosobranchia: Marginellidae) from the Venezuelan Caribbean. *The Veliger* **39**(1): 83-86.
- Penchaszadeh, P.E., Averbuj, A., y Cledón, M. 2001. Imposex in gastropods from Argentina (South-Western Atlantic). *Marine Pollution Bulletin* **42**(9): 790-791.
- Penchaszadeh, P.E., Miloslavich, P., Lasta, M., y Costa, P.M.S. 1999. Egg capsules in the genus *Adelomelon* (Caenogastropoda: Volutidae) from the Atlantic coast of South America. *The Nautilus* **113**(2): 56-63.

- Perkins, F.O. 1993. Infectious diseases of molluscs. En: Pathobiology of marine and estuarine organisms. J.A. Couch y J.W. Fournie (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo. pp. 255-287.
- Perron, F.E. 1981. The partitioning of reproductive energy between ova and protective capsules in marine gastropods of the genus *Conus*. *American Naturalist* **118**(1): 110-118.
- Picken, G.B. 1980. The distribution, growth, and reproduction of the antarctic limpet *Nacella (patinigera) concinna* (Strebel, 1908). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **42**: 71-85.
- Plachetzki, D.C., Serb, J.M., y Oakley, T.H. 2005. New insights into the evolutionary history of photoreceptor cells. *Trends in Ecology and Evolution* **20**(9): 465-467.
- Ponder, W.F. 1973. The origin and evolution of the Neogastropoda. *Malacologia* **12**(2): 295-338.
- Ponder, W.F., y Lindberg, D. 1996. Gastropod Phylogeny - Challenges for the 90s. En: Origin and evolutionary radiation of the Mollusca. J. Taylor (Ed.). The Malacological Society of London - Oxford University Press, Oxford. pp. 135-154.
- Ponder, W.F., Colgan, D.J., Healy, J.M., Nützel, A., Simone, L.R.L., y Strong, E.E. 2007. Caenogastropoda. En: Molluscan Phylogeny. W.F. Ponder y D.L. Lindberg (Eds.). University of California Press, Los Angeles. pp. 331-383.
- Quinn, T.J., y Deriso., R.B. 1999. Growth and fecundity. En: Quantitative Fish Dynamics. Laderman (Ed.). Oxford University Press, New York. 542 pp.
- Rawlings, T.A. 1994. Encapsulation of eggs by marine gastropods: effects of variation in capsules from on the vulnerability of embryos to predation. *Evolution* **48**(4): 1301-1313.
- Reyment, R. 1980. Paleo-oceanology and paleobiogeography of the Cretaceous South Atlantic Ocean. *Oceanologica Acta* **3**: 127-133.
- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain for electron microscopy. *Journal of Cell Biology* **17**: 208.
- Richardson, C.A. 2001. Molluscs as archives of environmental change. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* **39**: 103-164.
- Richardson, C.A., Kingsley-Smith, P.R., Seed, R., y Chatzinikolaou, E. 2005a. Age and growth of the naticid gastropod *Polinices pulchellus* (Gastropoda: Naticidae) based on length frequency analysis and statolith growth rings. *Marine Biology* **148**(2): 319-326.

- Richardson, C.A., Saurel, C., Barroso, C.M., y Thain, J. 2005b. Evaluation of the age of the red whelk *Neptunea antiqua* using statoliths, opercula and element ratios in the shell. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **325**: 55-64.
- Rios, E.C. 1994. *Seashells of Brazil*. Editora da Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande. 368 pp.
- Roach, A.C., y Lim, R.P. 2000. Variation in the population dynamics of the intertidal pulmonate gastropod *Salinator solida* Martens (Gastropoda: Amphibolidae) at Towra Point, NSW, Australia. *Wetlands Ecology and Management* **8**: 53-69.
- Rodriguez L, Daneri, G., Torres, C., León, M., y L, B. 2001. Modeling the growth of the Chilean loco, *Concholepas concholepas* (Bruguere, 1789) using a modified Gompertz-type function. *Journal of Shellfish Research* **20**: 309-315.
- Rohde, K. 2005. *Marine Parasitology*. Cabi Publishing, Wallingford. 592 pp.
- Ruppert, E.E., Barnes, R.D., y Fox, R.S. 2004. *Invertebrate Zoology*. W.B. Saunders Co., Philadelphia. 963 pp.
- Rutherford, E.S., y Houde, E.D. 1995. The influence of temperature on cohort-specific growth, survival, and recruitment of the striped bass, *Morone saxatilis*, larvae in Chesapeake Bay. *Fisheries Bulletin* **93**: 315-332.
- Santarelli Chaurand, L., y Gross, P. 1985. Age and growth of the whelk *Buccinum undatum* L. (Gastropoda: Prosobranchia) using stable isotopes of the shell and operculum striae. *Oceanologica Acta* **8**: 221-229.
- Scheltema, R.S. 1964. Feeding habits and growth in the mud-snail *Nassarius obsoletus*. *Cesapeake Science* **5**(4): 161-166.
- Schiaparelli, S., y Cattaneo-Vietti, R. 1999. Functional morphology of vermetid feeding-tubes. *Lethaia* **32**: 41-46.
- Schwarz, C.J., y Seber, G.A.F. 1999. Estimating Animal Abundance: Review III. *Statistical Science* **14**(4): 427-456.
- Sepkoski., J.J., y Hulver, M.L. 1985. An atlas of Phanerozoic clade diversity diagrams. En: *Phanerozoic Diversity Patterns*. J.W. Valentine (Ed.). Princeton University Press, Princeton. pp. 11-39.
- Shepherd, S., y Hearn, W. 1983. Studies on southern Australian abalone (Genus *Haliotis*). IV. Growth of *H. laevigata* and *H. ruber*. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **34**(3): 461 - 475.

- Shigemiya, Y., y Kato, M. 2001. Age distribution, growth, and lifetime copulation frequency of a freshwater snail, *Clithon retropictus* (Neritidae) Population Ecology **43**: 133-140.
- Shuto, T. 1974. Larval ecology of prosobranch gastropods and its bearing in biogeography and paleontology. Lethaia **7**(3): 239-256.
- Simone, L.R. 1996. Anatomy and systematics of *Buccinanops gradatus* (Deshayes, 1844) and *Buccinanops moniliferus* (Kiener, 1834) (Neogastropoda, Muricoidea) from the southeastern coast of Brazil. Malacologia **38**(1-2): 87-102.
- Sohl, N.F. 1969. The fossil record of shell boring by snails. American Zoologist **9**(3): 725-734.
- Spight, T.M. 1976. Hatching size and the distribution of nurse eggs among prosobranch embryos. Biological Bulletin **150**: 491-499.
- 1979. Environment and life history: The case of two marine snails. En: Reproductive ecology of marine Invertebrates. Estancyk, S. (Ed.) University of South Caroline Press **9**: 135-143.
- Strickler, A.G., Yamamoto, Y., y Jeffery, W.R. 2001. Early and late changes in Pax6 expression accompany eye degeneration during cavefish development. Development Genes and Evolution **211**: 138-144.
- Taylor, J.D. 1978. Habitats and diets of predatory gastropods at Addu Atoll, Maldives. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **31**(1): 83-103.
- 1981. The evolution of predators in the late Cretaceous and their ecological significance. En: The Evolving Biosphere. P.L. Forey (Ed.). British Museum (Natural History) and Cambridge University Press, Cambridge. pp. 229-239.
- 1996. Understanding biodiversity: Adaptive radiations of predatory marine gastropods. En: The Marine Biology of the South China Sea. B. Morton (Ed.). pp. 187-206.
- Taylor, J.D., y Miller, J.A. 1989. The morphology of the osphradium in relation to feeding habits in Meso- and Neogastropods. Journal of Molluscan Studies **55**(2): 227-237.
- Taylor, J.D., Morris, N.J., y Taylor, C.N. 1980. Food specialization and the evolution of predatory prosobranch gastropods. Palaeontology **23**(2): 375-409.
- Thorson, G. 1940a. Notes on the egg-capsules of some North-Atlantic Prosobranch of the Genus *Troschelia*, *Chrysodomus*, *Volutopsis*, *Sipho* and *Trophon*. En: Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates, with special reference to the planktonic larvae in the sound (Øresund). O. Havundersøgelse (Ed.). Meddelelser fra kommissionen for danmarks fiskeri. pp. 1-523.

- 1940b. Studies on the egg masses and larval development of gastropoda from the Iranian Gulf. Danish Scientific investigations in Iran **2**: 159-238.
- Tojo, B., y Ohno, T. 1999. Continuous growth-line sequences in gastropod shells. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology **145**: 183-191.
- Tomarev, S., Callaerts, P., Kos, L., Zinovieva, R., Halder, G., Gehring, W.J., y Piatigorsky, P. 1997. Squid Pax-6 and eye development. Proceedings of the National Academy of Sciences **94**: 2421-2426.
- Urteaga, D. y Pastorino, G. 2007. Valve ultrastructure in the Order Chitonida (Polyplacophora) from the South West Atlantic. World Congress of Malacology, Antwerp, Belgium. pp. 227.
- Valderhaug, V.A. 1985. Population structure and production of *Lumbrinereis fragilis* (Polychaeta: Lumbrineridae) in the Oslo fjord (Norway) with a note on metal content of jaws. Marine Biology **86**: 203-211.
- Van den Biggelaar, A.M., y Haszprunar, G. 1996. Cleavage patterns and mesentoblast formation in the gastropoda: an evolutionary perspective. Evolution **50**(4): 1520-1540.
- Valentinsson, D. 2002. Reproductive cycle and maternal effects on offspring size and number in the neogastropod *Buccinum undatum* (L.). Marine Biology **140**: 1139-1147.
- Vasconcelos, P., Gaspar, M.B., Pereira, A.M., y Castro, M. 2006. Growth rate estimation of *Hexaplex trunculus* based on mark/recapture experiments in the Ria Formosa lagoon. Journal of Shellfish Research **25**(1): 249-256.
- Vermeij, G.J. 1978. Biogeography and adaptation: Patterns of Marine Life. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 332 pp.
- 1987. The dispersal barrier in the tropical Pacific: implications for molluscan speciation and extinction. Evolution **41**(5): 1046-1058.
- Vernberg, W.B., y Vernberg, F.J. 1963. Influence of parasitism on thermal resistance of the mud-flat snail, *Nassarius obsoleta* Say. Experimental Parasitology **14**: 330-332.
- Voltzow, J. 1994. Gastropoda: Prosobranchia. Harrison, F. W. y A. J. Kohn, (Eds.) En: Microscopic anatomy of invertebrates Vol. 5, Mollusca I. New York Wiley-Liss, Inc. pp. 111-252.
- Wefer, G., y Berger, W.H. 1991. Isotope paleontology: growth and composition of extant calcareous species. Marine Geology **100**: 207-248.
- Wefer, G., y Killingley, J.S. 1980. Growth histories of Strombid snails from Bermuda recorded in their O-18 and C-13 profiles. Marine Biology **60**: 129-135.

- Wells, J.W. 1963. Coral growth and geochronometry. *Nature* **197**: 94-95.
- Wilbur, K.M. 1964. Shell formation and regeneration. En: *Physiology of Mollusca*. K.M. Wilbur y C.M. Yonge (Eds.). Academic Press, Inc., New York, USA. pp. 243-282.
- Willey, C.H., y Gross, P.R. 1957. Pigmentation in the foot of *Littorina littorea* as a means of recognition of infection with trematode larvae. *Journal of Parasitology* **43**: 324-327.
- Wright, C.A. 1966. The pathogenesis of helminths in the Mollusca. *Helminth Abstracts* **35**: 207-224.

Apéndice: abreviaturas

aa: anémona

b: boca

c: concha

cae: cabezas de espermatozoides

cd: cercaria en desarrollo

ce: células gametogénicas

cf: células fotorreceptoras

ch: concha de la hembra

ci: ciego intestinal

cm: concha del macho

co: cola

coe: colas de espermatozoides

cpe: células paraespermatogénicas

cs: células de soporte

e: esófago

ec: espermocitos

ed: espermátidas

eg: esfera germinal

et: epitelio del túbulo

es: espinas

eu: eucromatina

ez: espermatozoides

f: faringe

gla: glándula del albumen

glc: glándula de la cápsula

gld: glándula digestiva

gh: gónada hembra

gm: gónada macho

h: huevo

hu: humor

he: heterocromatina

ma: macrómeros

mi: micrómeros

mo: manchas oculares

ms: mastocitos

nu: núcleo
le: lente
lp: lóbulo polar
lu: lumen
o: ojo
oc: ovicápsula
og: oogonias
on: nervio óptico
oo: oocitos
ope: opérculo
ov: ovario
p: pie
pd: pedúnculo
pe: pene
ph: pie de la hembra
pi: pigmentos
pm: pie del macho
re: residuos reproductivos
sc: esculturas
se: células de Sertoli
sf: sifón
st: estómago
t: tentáculo
tc: tejido conectivo
te: tejido epidérmico
tm: tejido muscular
to: testículo
v: velo
vd: vaso deferente
vi: vitelo
vo: ventosa oral
vv: ventosa ventra