

## 2. Ictiofauna antártica

*“¡Cómo! ¡Tanta palabrería por un solo pez!  
Realmente compadezco al autor, si tiene la obligación  
de decir otro tanto de cada una de las especies  
que viven en estas aguas.”*

Del Jeque El Manhdi al leer el texto científico de  
Geoffroy Saint-Hilaire sobre la descripción de un pez del Nilo.

En lo que se refiere a la diversidad taxonómica, la fauna íctica antártica contiene 313 especies representadas en 50 familias (Eastman y Eakin, 2000); esto significa que, aunque el Océano Austral representa el 10% de la superficie total de los océanos, solamente contiene al 1% de la fauna íctica, dado que según Eschmeyer (1998) existen aproximadamente 26.000 especies válidas.

Así, la fauna íctica antártica es mucho menos diversa en los taxa superiores de lo que cabría esperar dada la gran diversidad morfológica y ecológica que presenta (Kock y Kellerman, 1991; Eastman, 1993; Eastman y Clarke, 1998).

Hasta hace poco tiempo se consideraba que los Notothenioidae constituían el grupo con mayor número de especies en el océano Austral. Sin embargo, en el año 1998 el número de especies descritas de la familia Liparidae (Scorpaeniformes) casi duplicaba el de las de Notothenioidae (Andriashev y Stein, 1998). Desde esa fecha, el número de especies de representantes de la familia Liparidae descritas no ha hecho más que aumentar (Matallanas, 1998, 1999; Matallanas y Pequeño, 2000a,b), mientras que los Notothenioidae

constituyen un grupo taxonómicamente mejor conocido. La familia Liparidae junto con el suborden Notothenioidei son linajes no emparentados, y conforman el mayor componente de la ictiofauna de la plataforma y la parte superior del talud (Eastman y Clarke, 1998; Eastman y Eakin, 2000). Aunque la familia Liparidae es la que agrupa mayor número de especies, en lo que respecta a la abundancia y la biomasa, las familias del suborden Notothenioidei suman un 95% (Eastman, 2000).

Además, la fauna íctica es altamente endémica, con el 88% de las especies confinadas a la región antártica, al sur del FPA; alrededor del 70% de los órdenes y el 95% de las especies son endémicas (Kulesz, 1998) y si sólo se considera al suborden Notothenioidei, entonces el endemismo es del 85% para géneros y del 97% para las especies (Andriashev, 1987).

## **2.1 Suborden Notothenioidei**

El suborden Notothenioidei incluye 8 familias (Balushkin, 1992) y 122 especies (Tabla III) (Eastman, 2000; Eastman y Eakin, 2000); la mayoría de estas especies (96) están confinadas a la región antártica (Eastman y Eakin, 2000). En las zonas de plataforma, con temperaturas del agua inferiores a 0°C y en el talud, el 46% de la ictiofauna está representada por Notothenioidei, que ocupan la mayoría de los hábitats bentónicos y de la columna de agua, sumando entre el 90 y el 95% de la biomasa (Kock, 1985; Ekau, 1990; Eastman, 2000).

Las cinco familias de este suborden que dominan en número de especies y biomasa son: Nototheniidae, Harpagiferidae, Channichthyidae, Artedidraconidae y Bathydraconidae. Por ejemplo, en la zona sur y este del Mar de Weddell, el 94% de los individuos capturados pertenece a la familia Nototheniidae (Kock, 1985). Este grado de saturación del hábitat por un solo grupo taxonómico puede atribuirse al hecho de que todos los Notothenioidei ocupan nichos que en aguas templadas o tropicales están ocupados por varios grupos taxonómicos de peces (Eastman, 2000).

**Tabla III:** Familias del suborden Notothenioidei, con algunas especies representativas (tomado y modificado de Balushkin, 1992).

Familia	Especies
Bovichthyidae	<i>Bovichtus chilensis</i> * <i>Cottoperca gobio</i>
Pseudaphritidae	<i>Seudaphritis urvillii</i>
Eleginopsidae	<i>Eleginops maclovinus</i>
Nototheniidae	<i>Notothenia rossi</i> <i>Pleurogramma antarcticum</i>
Harpagiferidae	<i>Harpagifer spinosus</i> <i>H. antarcticus</i>
Artedidraconidae	<i>Artedidracono orianae</i> <i>Dolloidracono longedorsalis</i>
Bathydraconidae	<i>Bathydraco marri</i> <i>Akarotaxis nudiceps</i>
Channichthyidae	<i>Cryodraco antarcticus</i> <i>Dacodraco hunteri</i>

\* *B. chilensis* Regan, 1913 ha sido redescrita, invalidándose *B. elongatus* Hureau y Tomo, 1977, por estar hecha su descripción en base a juveniles de *B. chilensis* (Bravo *et al.*, 1999).

Un simple recuento del número de especies no describe adecuadamente la radiación de este grupo. Además de la diversificación filética, los Notothenioidei han experimentado diversificaciones a nivel morfológico y ecológico (Clarke y Johnston, 1996; Eastman y Clarke, 1998). Este suborden ha sufrido una diversificación centrada en la alteración de la flotabilidad y en los cambios morfológicos asociados con la natación, como la fusión de elementos del esqueleto caudal (Andersen, 1984; Anderson, 1990; Eastman, 1993). Aunque no

poseen vejiga gaseosa, algunos grupos se han apartado del hábitat ancestral bentónico hacia un hábitat pelágico o parcialmente pelágico (Andersen, 1984). Las formas secundariamente pelágicas comprenden un gran número de miembros de las familias Nototheniidae, Channichthyidae, Bathydraconidae e incluso Harpagiferidae, las cuales pasan sus primeros años de vida entre dos aguas asociados a los movimientos del hielo o a las agregaciones de "krill", o están adaptadas a vivir en la zona pelágica durante toda su vida, como es el caso de *Pleuragramma antarcticum* (Kock, 1985).

Este grupo es uno de los elementos clave en las redes tróficas, como depredadores de "krill" y presas de mamíferos marinos, aves y, posiblemente, de calamares (North y White, 1987).

Dado que los Notothenioidei dominan la ictiofauna del océano Austral, es de especial interés dilucidar los procesos de evolución y diversificación que ha sufrido este grupo; al respecto es de suma importancia el estudio de su biogeografía.

## 2.2 Biogeografía

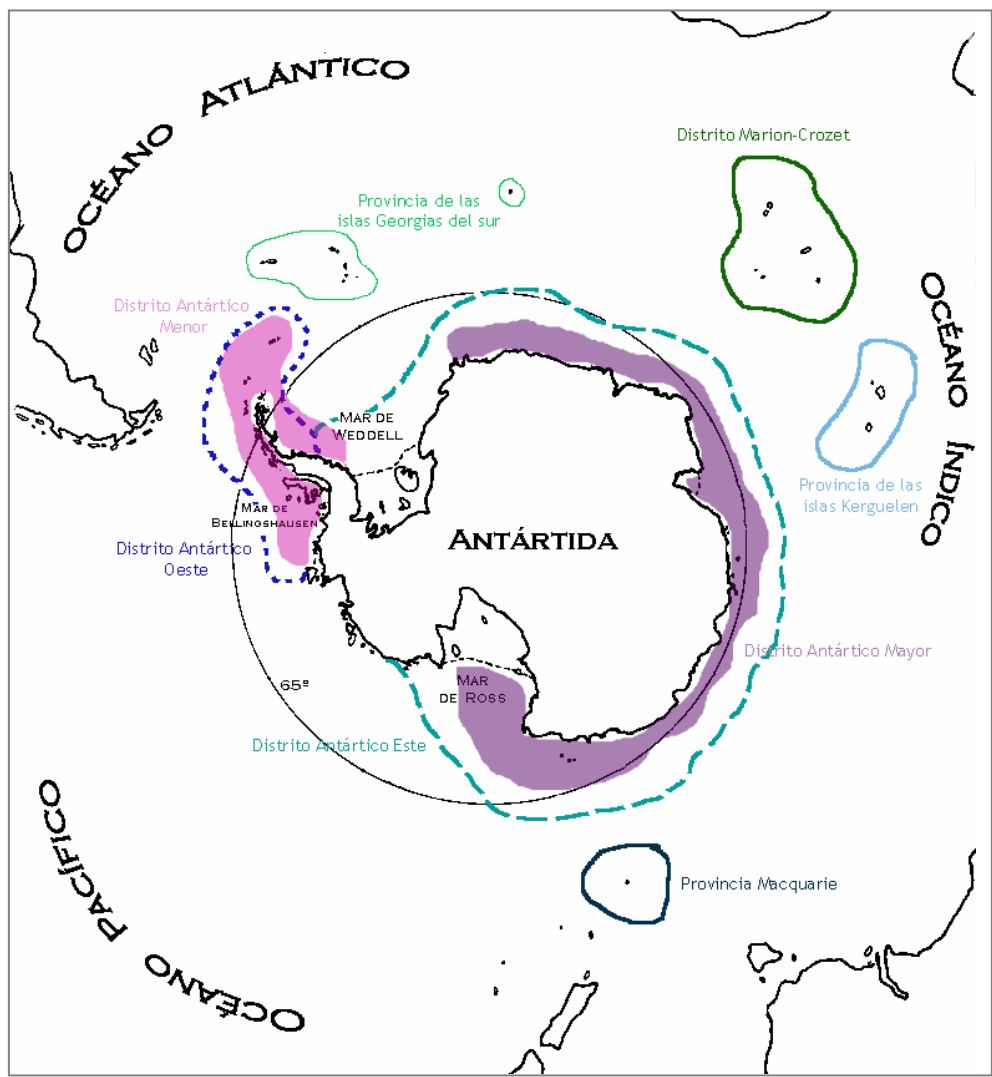
La biogeografía es definida por Futuyma (1998) como la ciencia que busca explicar la distribución geográfica de las especies; según Margalef (1974) la biogeografía es el estudio de los fenómenos biológicos en su manifestación espacial. Para un estudio adecuado acerca de los patrones de distribución de las especies es preciso tener en cuenta tanto factores geográficos como históricos (Ridley, 1996). Las distribuciones geográficas son afectadas generalmente por el clima, tanto pasado como presente, y por procesos de vicarianza y dispersión (Bargelloni *et al.*, 2000b). Por ejemplo, la distribución de especies emparentadas de la familia Gobiidae (Perciformes), presentes a uno y otro lado del istmo de Panamá, es un caso de vicarianza. Esta barrera surgió en el Plioceno, separando las poblaciones del Pacífico este de las del mar Caribe, las cuales se convirtieron en diferentes especies, mediante lo que se conoce como modelo de aislamiento alopatrico. De esta manera, el rango de distribución actual de las especies es el resultado final de la acción de dichos factores sumados a lo largo del tiempo.

Diversos autores, basándose en la distribución, origen y dispersión de las especies costeras y demersales, dividen clásicamente al Océano Austral en la subregión Glacial, que incluye a los distritos Antárticos Este y Oeste y las islas Georgias del Sur, y la subregión de las islas Kerguelen (Figura 20) (Regan, 1914; Nybelin, 1947; Andriashev, 1965; Kock, 1985). Andriashev (1987) reconoce cinco unidades faunísticas dentro de este esquema:

1) El Distrito Antártico Este comprende las aguas de plataforma de la mayor parte del continente excepto la Península Antártica, esta región incluye pocas islas, las áreas de plataforma están limitadas por la cubierta de hielo y casi no existe fauna litoral. En general, la temperatura de las aguas es mucho más baja que en las demás regiones. Kock (1985) denomina a esta división Distrito Antártico Mayor y no incluye en ella al mar de Weddell.

2) El Distrito Antártico Oeste incluye la Península Antártica, el mar de Bellingshausen y las islas Shetland y Orcadas del Sur. La temperatura del agua en esta provincia es un poco más alta y la composición faunística es considerada intermedia entre el Distrito Este y la Provincia de las islas Georgias del Sur. El límite entre los distritos Este y Oeste es difícil de definir dada la escasa información acerca de las especies del mar de Weddell (Ekau, 1990). Esta área se correspondería con el Distrito Antártico Menor según Kock (1985). Ambos distritos, el Antártico Mayor y el Menor, contienen el 65% de las especies consideradas circumantárticas.

3) La Provincia de las islas Georgias del Sur incluye también a las islas Sandwich y Bouvet, se considera una zona de transición entre la Patagonia y la Antártida, y el punto de entrada de especies que provienen de regiones más al norte. Entre el 30 y el 40% de las especies en esta zona son endémicas; son áreas libres de hielos, de poca profundidad y con temperaturas de las aguas superiores a 0°C (Kock, 1985).



**Figura 20:** Divisiones zoogeográficas clásicas del Océano Austral (tomado de Andriashev, 1965, con modificaciones).

4) La subregión de las islas Kerguelen incluye a diversas islas del Océano Austral. Aquellas ubicadas en el sector Índico, forman la Provincia de Islas Kerguelen, Heard y Skiff y, por último, la Provincia Macquarie que incluye a las islas Macquarie, Auckland y Campbell. La mayoría de las islas de esta región están ubicadas al norte del FPA, es decir, están



consideradas como subantárticas y presentan una mayor afinidad con las Islas Georgias del Sur que con el continente. Las temperaturas de las aguas oscilan entre los 3°C y los 6°C y son áreas libres de hielo (Kock, 1985). En esta subregión se encuentra fauna litoral y sublitoral, y abundan los bosques de *Macrocystis* (DeWitt, 1971), que juegan un papel importante en la distribución de varias especies de Notothenioidei, por ejemplo de *Harpagifer bispinis* (Moreno y Jara, 1984). Gran parte de la ictiofauna es endémica y muestra gran afinidad con la fauna de la Provincia Oeste, debido a la dispersión de huevos o larvas desde la región de Escocia por medio de la CA (DeWitt, 1971). Algunos ejemplos de estos procesos de dispersión pueden consultarse en Matallanas (1997).

5) Por último, Andriashev (1987) define al Distrito Marion-Crozet, que abarca las islas Príncipe Eduardo, Marion, Crozet, Kara Dag y Lena, con características subantárticas.

Sin embargo, estas divisiones no son satisfactorias desde un punto de vista ecológico, dado que no toman en cuenta los peces pelágicos, la extensión de los hielos y la distribución del plancton (Hureau, 1994). En este contexto parece conveniente seguir las divisiones propuestas por Hureau (1994) que toma las divisiones hechas por Kock (1992) y las modifica ligeramente. De este modo el Océano Austral queda dividido en tres grandes zonas ecológicas, de sur a norte: la zona Alta de la Antártida, la zona de Hielos Estacionales y la zona Libre de Hielos (Figura 21).

La zona de la Alta Antártida es la región adyacente al continente, que está cubierta de hielo permanente la

mayor parte del año. Esta zona abarca todas las costas del continente Antártico, la mayor parte de la plataforma continental y las islas Peter y Balleny (Hureau, 1994).

El límite norte de la zona de Hielos Estacionales coincide con el límite norte de los hielos en invierno y limita al sur con el límite norte de los hielos en verano. Esta zona intermedia abarca la Divergencia Antártica y en algunas regiones se extiende muy cerca del continente (Kock, 1992). Constituye la zona más productiva desde el punto de vista ecológico, con grandes concentraciones de “krill” en el plancton. Las islas Shetland del Sur, Orcadas del Sur y Sandwich del Sur quedan ubicadas dentro de esta división.

Por último, la zona Libre de Hielos se extiende entre la Convergencia subtropical y el límite norte de los hielos en invierno. Esta región se caracteriza por la presencia de peces meso y batipelágicos y de fauna costera (Hureau, 1994). En esta región quedan agrupadas el resto de islas llamadas subantárticas.

La región magallánica y las islas Malvinas constituyen la Provincia Magallánica, que puede incluirse en la zona Libre de Hielos si se tiene en cuenta la composición de la fauna y la posición de la Convergencia subtropical (Hureau, 1994).

De todos modos, diversos estudios acerca de la diversificación de los Notothenioidei (Hureau, 1994; Bargelloni *et al.*, 2000b) muestran que los sucesos de

especiación ocurrieron repetidamente a través de las zonas ecológicas.

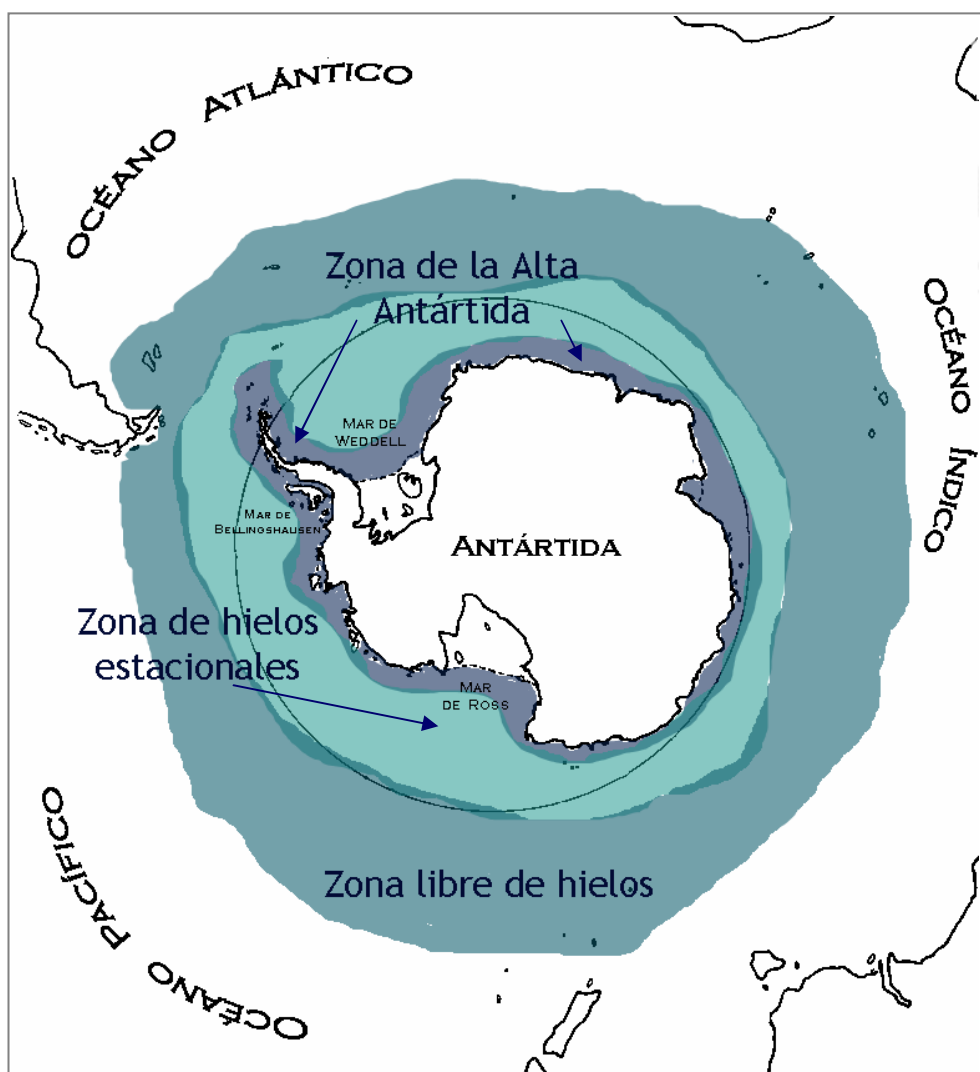


Figura 21: Zonas ecológicas, según Hureau (1994).

Desde un punto de vista más dinámico se tiende a ver las distribuciones geográficas como el resultado de un equilibrio entre velocidad de dispersión o dilatación de las áreas y velocidad de especiación, teniendo en cuenta que

ambos procesos se desarrollan sobre un espacio heterogéneo (Margalef, 1974). En el caso del grupo que nos ocupa, son muchas las preguntas que quedan por contestar acerca de los procesos de especiación y dispersión. Hasta el momento la falta de un conocimiento preciso de la filogenia de este grupo ha obstruido el entendimiento de los patrones tanto de distribución geográfica como de especiación (Bargelloni *et al.*, 2000b).

### 2.3 Origen y diversificación del Suborden Notothenioidei

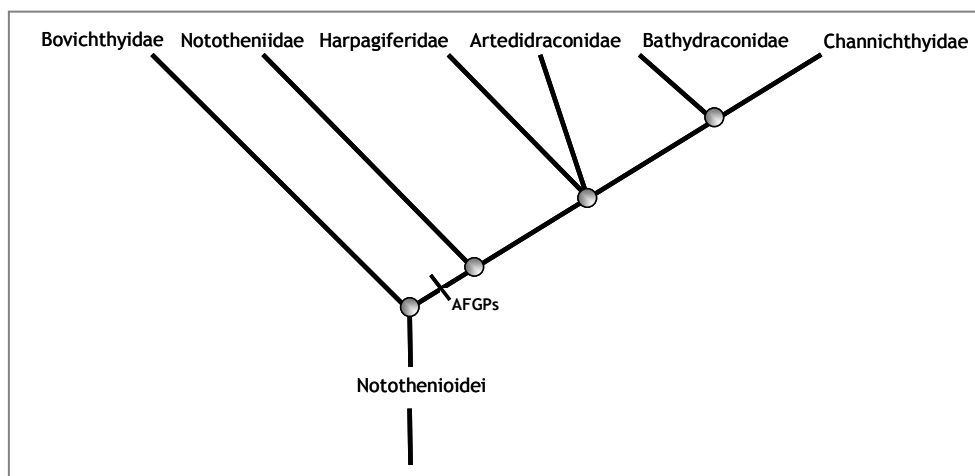
La fragmentación de Gondwana y el posterior desarrollo de los patrones oceanográficos alrededor de la Antártida influenciaron, en gran medida, la composición de la fauna ictica (Eastman, 1995). En este contexto, el desarrollo de los Notothenioidei como una rama separada dentro del orden Perciformes tuvo lugar hacia fines del Cretácico y durante el Eoceno (Balushkin, 2000).

Según Eastman (1993) el “stock” ancestral de los Notothenioidei se escindió en dos grupos (o clados): la familia Bovichthyidae y el resto de los Notothenioidei (Figura 22). Esta divergencia filética está relacionada con eventos de vicarianza causados por la fragmentación de Gondwana y el aislamiento y enfriamiento de la Antártida (Eastman, 1993), y con la adquisición de las proteínas anticongelantes (Bargelloni *et al.*, 1994).

La familia Bovichthyidae, algunas especies de la familia Nototheniidae y, posiblemente, el clado de Harpagiferidae, hayan divergido antes del aislamiento de la Antártida, durante el período inicial del enfriamiento climático, dado que estos grupos contienen especies tanto antárticas como no antárticas (Eastman, 1993; Clarke y Johnston, 1996).

La mayor divergencia filética tuvo lugar probablemente hace entre 25 y 2 m.a, luego del aislamiento de la Antártida y la formación del Océano Austral (Eastman, 1993). Este aislamiento redujo la migración y permitió la evolución de linajes locales (Gon y Heemstra, 1990; Eastman, 1997, 2000).

Sin embargo según Stankovic *et al.* (2002) y Bargelloni *et al.* (1994, 2000b) la divergencia entre las especies antárticas y las subantárticas tuvo lugar posteriormente a la formación del FPA.



**Figura 22:** Cladograma que muestra las relaciones entre las familias del suborden Notothenioidei (modificado a partir de Eastman, 1993). AFGPs: proteínas anticongelantes.

La fragmentación de Gondwana, la separación de Australia de la Antártida y la formación del FPA, pueden tomarse como eventos vicariantes que llevaron a la especiación de algunos grupos dando lugar a las especies antárticas; no obstante, el caso de aquellas que tienen distribución no antártica, no puede explicarse por estos mismos mecanismos (Bargelloni y Lecointre, 1998; Bargelloni *et al.*, 2000a).

Según estudios basados en secuencias de ADN mitocondrial (16s y 12s ARNr) y nuclear (28s ARNr), la

radiación de las cinco familias con proteínas anticongelantes tuvo lugar hace entre 15 y 5 m.a. (Bargelloni *et al.*, 1994; Bargelloni y Lecointre, 1998; Eastman, 2000). Siguiendo la distribución de las proteínas anticongelantes en el cladograma (Figura 22), se puede conjeturar que las mismas aparecieron sólo una vez durante la radiación de los Notothenioidei, luego de la separación de los Bovichthyidae y que este suceso está asociado al enfriamiento del Océano Austral (Clarke y Johnston, 1996). Según diversos estudios (Bargelloni *et al.*, 1994; Cheng, 1998), la aparición de las proteínas anticongelantes no se produjo hasta hace aproximadamente 11 m.a., cuando el Océano Austral tuvo temperaturas polares. En el caso de las familias Channichthyidae y Artedidraconidae, según las estimas de tiempo de divergencia, la diversificación puede haber ocurrido en épocas más recientes, entre los 8 y los 2 m.a. (Bargelloni *et al.*, 2000a).

Diversos estudios en biología molecular (Bargelloni *et al.*, 1994; Ritchie *et al.*, 1996; Bargelloni *et al.*, 2000a,b) sugieren que no existe una tendencia simple de adaptación progresiva a condiciones climáticas cada vez más frías, sino que los patrones de diversificación son recurrentes, dándole mayor importancia a sucesos de dispersión que a factores ecológicos. Según Hureau (1994) los eventos de especiación pueden haber ocurrido repetidamente a través de las distintas zonas ecológicas, lo cual indica que los sucesos históricos y las características geográficas fueron importantes factores que influyeron en estos procesos.

La ictiofauna moderna de la plataforma continental y del talud de la Antártida está dominada en número de especies por la familia Liparidae y el suborden Notothenioidei (Eastman, 1993; Andriashev y Stein, 1998). Se puede asumir que los Notothenioidei han evolucionado de un “stock” demersal perciforme que, una vez que la fauna del Terciario temprano se extinguió, sufrió una radiación hasta producir la fauna que observamos actualmente (Eastman y Clarke, 1998; Balushkin, 2000). Las repetidas transiciones entre la zona de la Alta Antártida y la zona Libre de Hielos sugieren que los Notothenioidei tienen una alta plasticidad ecológica (Balushkin, 2000; Bargelloni *et al.*, 2000b). La diversificación de este grupo se vio favorecida por el aislamiento oceanográfico y térmico de la Antártida, por la ausencia de competidores de otros grupos (Balushkin, 2000) y por la creciente productividad del Océano Austral que comenzó hace aproximadamente 22 m.a. (Lutjeharms, 1990; Eastman, 2000).



## **2.4 Biología**

Los procesos de radiación adaptativa y el éxito de los Notothenioidei en condiciones de temperaturas extremas están relacionados con una variedad de especializaciones que les permiten realizar actividades bioquímicas y fisiológicas a temperaturas cercanas a los  $-2^{\circ}\text{C}$  (Eastman, 1993; Balushkin, 2000).

La mayoría de los Notothenioidei son peces bentónicos, confinados a profundidades menores a los 1000 metros, aunque el rango de profundidad varía entre las distintas especies (DeWitt, 1971). En la plataforma continental del Océano Austral ocupan todos los hábitats bentónicos y de la columna de agua (Andriashev, 1965; DeWitt, 1971; Eastman y Clarke, 1998). La ictiofauna antártica está dominada por especies de pequeña talla, aproximadamente la mitad de las especies alcanzan los 25 cm y sólo una docena de especies crecen más de 50 cm. Por ejemplo, la talla media para la familia Harpagiferidae es de 15 cm y para Channichthyidae, que agrupa a las especies de mayor tamaño, es de 43 cm (Andriashev, 1965). Los peces pertenecientes a este suborden no poseen vejiga gaseosa y, generalmente, se alimentan en las cercanías del sustrato. La mayoría de las especies desova en el fondo marino aunque las larvas y los juveniles frecuentemente son pelágicos. Los Notothenioidei muestran una amplia diversidad morfológica y ecológica (Andriashev, 1965; Eastman, 1993).

A bajas temperaturas, las tasas de difusión molecular y la velocidad de las reacciones enzimáticas pueden disminuir considerablemente y, en ausencia de mecanismos compensatorios, los procesos fisiológicos en los organismos ectotérmicos antárticos se producen más lentamente que en los de ambientes templados o tropicales (Wohlschlag, 1960; Somero, 1990). Las características biológicas más destacadas de estos organismos son su bajo metabolismo, una madurez tardía, huevos de gran tamaño y una baja fecundidad (Everson, 1977; North y White, 1987; Kock y Kellerman, 1991; Hubold, 1992; Eastman, 1993; Van der Molen y Matallanas 2003).

Algunas de las adaptaciones más notables son la presencia de proteínas anticongelantes y la disminución de hemoglobina en la sangre, el caso más extremo lo muestran los representantes de la familia Channichthyidae que carecen en absoluto del pigmento respiratorio.

#### 2.4.1 *Adaptación al frío*

Los Notothenioidei habitan las aguas más frías y más estables del océano. Además de las bajas temperaturas del agua, su extremada estabilidad parece haber influenciado profundamente las características de estos peces, permitiéndoles desarrollar un grado extraordinario de estenotermia (Wohlschlag 1960; Everson, 1984; Somero *et al.*, 1998). Algunas de las especies de este suborden soportan el rango térmico más restringido que se conoce entre los animales

(Somero *et al.*, 1998). Las adaptaciones al frío de varios sistemas son la mayor característica del desarrollo evolutivo de estas especies (Clarke y Johnston, 1996).

Estas adaptaciones, entre las más notables la presencia de péptidos y glicopéptidos anticongelantes (AFGPs en sus siglas en inglés), facilitan las funciones metabólicas en temperaturas cercanas al punto de congelamiento (DeVries, 1978). El mecanismo de funcionamiento de los AFGPs es el de adsorción-inhibición; estas moléculas anticongelantes se unen a los cristales de hielo, e inhiben su crecimiento (Cheng, 1998).

Otro aspecto, posiblemente relacionado con los AFGPs, es que las especies que las presentan también poseen riñones aglomerulares (Eastman y DeVries, 1986; Eastman, 1990). En los riñones aglomerulares la orina se produce por secreción tubular; las moléculas pequeñas como los AFGPs, entonces, son retenidas. Como no existe filtración glomerular, tampoco se requiere de un gasto de energía para reabsorber las glicoproteínas u otras proteínas sanguíneas, por lo tanto el costo metabólico de la osmorregulación en los peces antárticos es considerablemente menor que en otros teleósteos (Dobbs *et al.*, 1974).

## 2.5 Familias estudiadas

### 2.5.1 Familia *Artedidraconidae*

Esta familia comprende 4 géneros y 24 especies de peces bentónicos de pequeña a mediana talla (Eakin, 1990; Eastman y Eakin, 1999). Antiguamente se incluía a las especies que conforman esta familia dentro de la familia Harpagiferidae, pero actualmente se las considera dos familias distintas. Andriashev (1965) estableció dos grupos distintos, el primero agrupando a los géneros *Artedidraco*, *Dolloidraco*, *Histiodraco* y *Pogonophryne*, separando en un segundo grupo al género *Harpagifer*; posteriormente Eakin (1981) elevó esta división al rango de familia. Varios rasgos morfológicos garantizan la separación de estos taxa, por ejemplo la presencia de barbilla mentoniana y de espinas en el hueso opercular, ausentes en *Harpagifer* (Hureau, 1986). Sumado a esto, la evidencia molecular sugiere que la familia *Artedidraconidae* es un grupo monofilético (Ritchie *et al.*, 1996).

Como grupo son probablemente los nototénidos más sedentarios, puesto que permanecen la mayor parte del tiempo sobre el sustrato, inmóviles. Alcanzan una talla máxima entre 100 - 340 mm (Eakin, 1990; Eastman y Eakin, 1999).

Su distribución se restringe a la plataforma continental y talud antárticos, aunque una especie *Artedidraco mirus* se considera endémica de las islas Georgias del Sur (Eakin, 1990). La mayoría de las especies viven en profundidades menores a

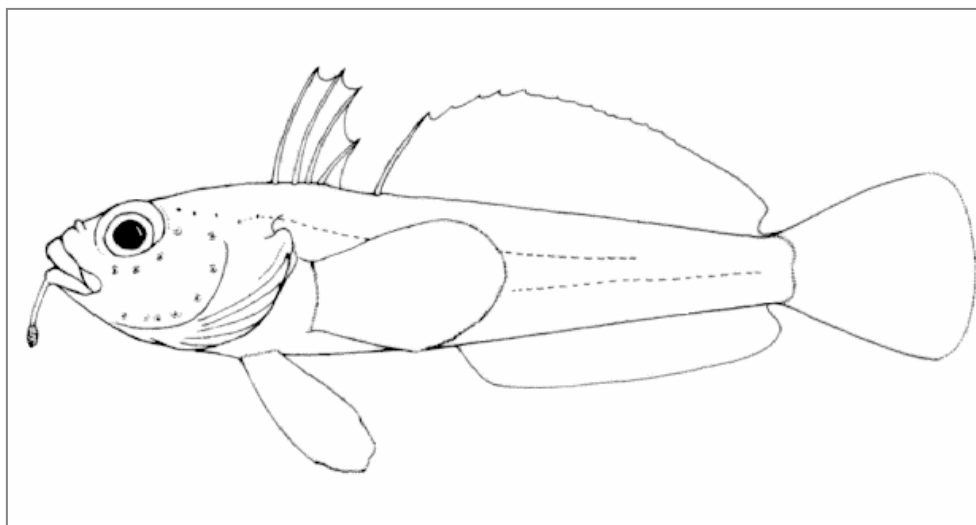
los 800 metros y las larvas, generalmente, se encuentran en aguas superficiales (Kellerman, 1989).

Estudios sobre la biología trófica de varias especies de esta familia revelan que tienen hábitos alimentarios similares, son todos predadores sedentarios que se alimentan de presas que se mueven activamente cerca del fondo las cuales son atraídas por su barbilla mentoniana. Su dieta se basa principalmente en anfípodos, poliquetos, isópodos y misidáceos (Wyansky y Targett, 1981; Olaso *et al.*, 2000). Los nichos tróficos de los géneros de esta familia parecen no superponerse en cuanto al rango de tallas y el tipo de presas (Olaso *et al.*, 2000).

Las especies de esta familia estudiadas en el presente trabajo son:

- *Artedidraco orianae* Regan, 1914
- *Dolloidraco longedorsalis* Roule, 1913
- *Pogonophryne marmorata* Norman, 1938

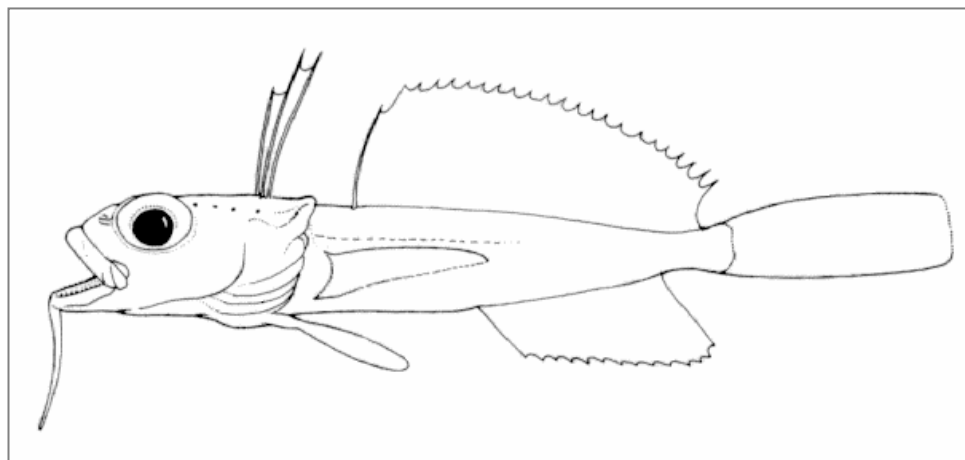
*Artedidraco orianae* (Figura 23) se distribuye en la región Este de la Antártida, en el Mar de Ross y Mar de Weddell, es una especie de distribución costera continental que tiene un rango de profundidad entre los 82 y los 800 metros. Su dieta se basa principalmente en anfípodos y poliquetos y alcanza una talla máxima de 151 mm (Eakin, 1990).



**Figura 23:** *Artedidraco orianae*.

*Dolloidraco longedorsalis* (Figura 24): esta especie muestra una distribución circum-antártica, encontrándose en el Mar de Weddell, Mar de Ross, Tierra de Graham y Tierra de Queen Mary, en las zonas sublitorales y plataforma continental a profundidades entre 200 y 1145 metros. En el Mar de Weddell la máxima abundancia de esta especie se encuentra entre los 400 y los 500 metros de profundidad (Ekau, 1990), mientras que, en el Mar de Ross se halla entre los 560 y 1100 metros (Eastman y Hubold, 1999).

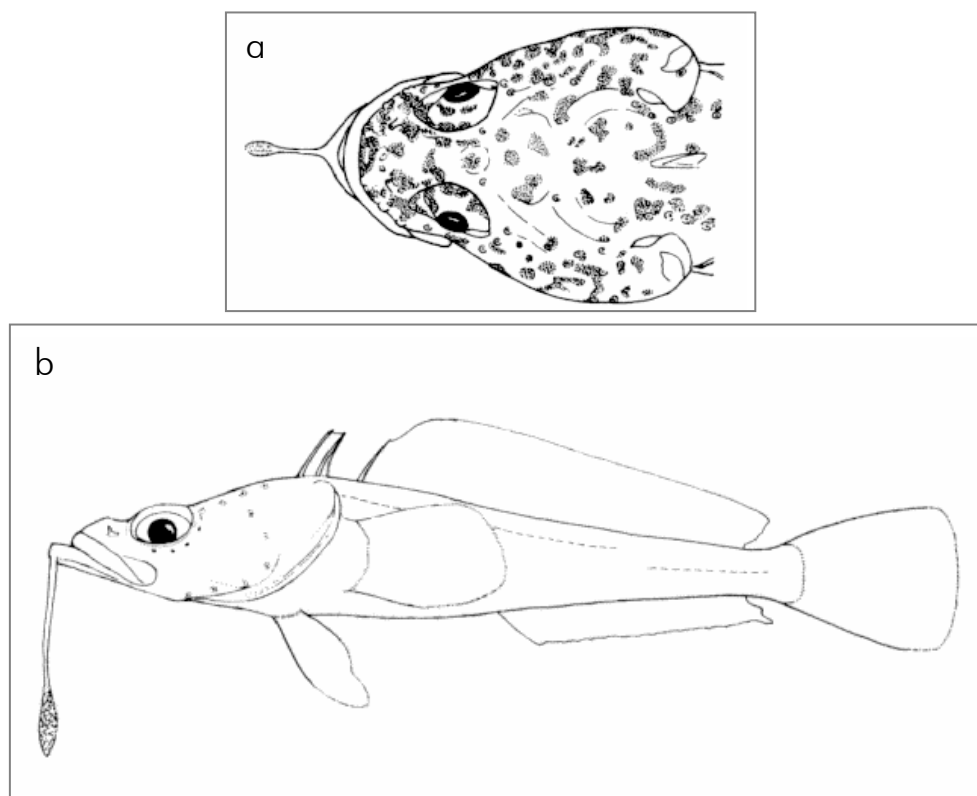
El ítem más importante en su dieta son los poliquetos, aunque también ingieren anfípodos e isópodos; alcanza una talla máxima de 137 mm (Eakin, 1990).



**Figura 24:** *Dolloidraco longedorsalis*.

*Pogonophryne marmorata* (Figura 25) se distribuye en la zona este de la Antártida, en el Mar de Ross, Mar de Davis y Tierra de Queen Maud, también en las Islas Shetland del Sur y Orcadas del Sur a profundidades entre los 140 y los 1405 metros. En el Mar de Weddell su máxima abundancia se encuentra entre los 400 y los 500 metros (Ekau, 1990).

Los estudios de dieta muestran que *P.marmorata* se alimenta principalmente de misidáceos, isópodos y anfípodos. La talla máxima es de 210 mm (Ekau, 1990).



**Figura 25:** *Pogonophryne marmorata*: a, detalle vista dorsal; b, vista lateral.

### 2.5.2 *Familia Bathydraconidae*

Esta familia comprende 10 géneros y 15 especies de pequeños peces endémicos del Océano Austral. La mayoría de las especies se encuentra sobre la plataforma continental de la Antártida y el talud, pero se sabe de algunas que habitan las cercanías de islas antárticas y subantárticas (Gon, 1990). Generalmente se los encuentra en las regiones más profundas de la plataforma continental antártica; en la zona del Mar de



Weddell presentan las mayores densidades alrededor de los 450 metros, en la región más alta de la plataforma (Ekau, 1990).

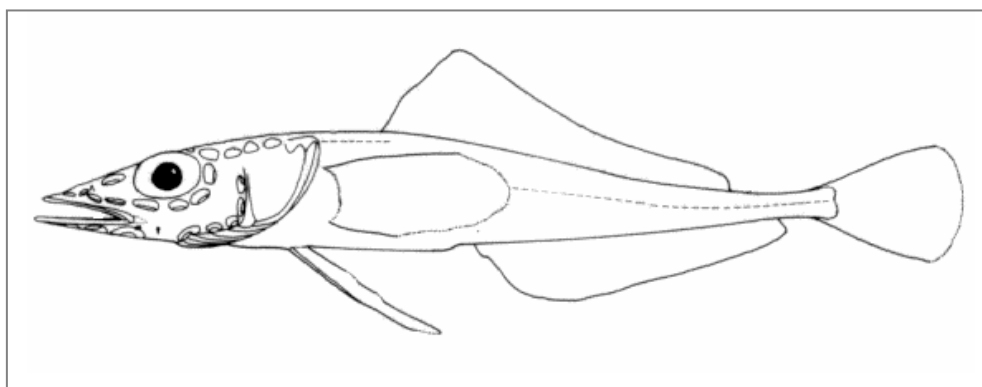
Según Eastman (1993) esta es la única familia del suborden Notothenioidei que no tiene representantes al norte del FPA, sin embargo Balushkin (1992) refiere que *Bathyraco joannae* ha colonizado secundariamente las aguas del extremo sur de Sudamérica.

A pesar de que las larvas son pelágicas (Kellerman, 1990) la mayoría de los adultos son probablemente bentónicos (Eastman, 1993).

En el caso de la familia Bathydraconidae, se han estudiado las siguientes especies:

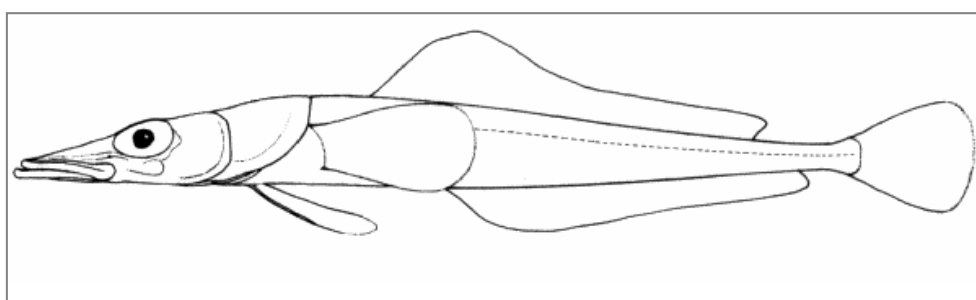
- *Akarotaxis nudiceps* Waite, 1916
- *Bathyraco macrolepis* Boulenger, 1907
- *Gerlachea australis* Dollo, 1900

*Akarotaxis nudiceps* (Figura 26) se distribuye en la plataforma continental antártica y en el Oeste de la Tierra de Adelaide en la Península Antártica, en profundidades entre los 371 y 915 m (Gon, 1990). Se desconoce información acerca de su biología, su talla máxima es de 130 mm y su rango de distribución en profundidad es de 371-915 m (Gon, 1990).



**Figura 26:** *Akarotaxis nudiceps*.

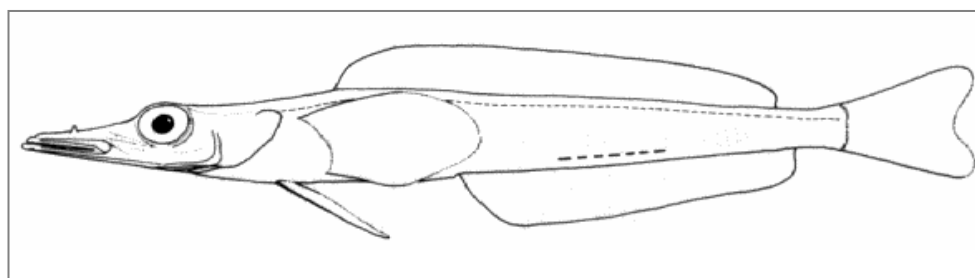
*Bathyraco macrolepis* (Figura 27) se encuentra en la plataforma continental y en el talud de la Antártida, probablemente, con distribución circum-antártica; presenta una distribución batimétrica disjunta entre los 450 y 950 metros y entre los 1750 y los 2100 metros, aunque debido a la falta de información acerca de esta especie esta apreciación puede deberse a un error de muestreo. Alcanza una talla de 250 mm (Gon, 1990).



**Figura 27:** *Bathyraco macrolepis*.

*Gerlachea australis* (Figura 28) se encuentra en la Península Antártica, la isla Elefante y la plataforma continental de la Antártida, en un rango de profundidad entre los 200 y 670 metros (Gon, 1990).

Esta especie desova en otoño o principios de invierno y las larvas eclosionan posiblemente durante la primavera (Gon, 1990), en el Mar de Weddell la población reproductora está representada por especímenes de 200 mm (Kock *et al.*, 1985). Su dieta se basa en crustáceos pelágicos. Alcanza una talla de 240 mm (Gon, 1990).



**Figura 28:** *Gerlachea australis*.

### 2.5.3 Familia Channichthyidae

Son los llamados peces de hielo, los únicos dentro de los vertebrados en los que la ausencia de hemoglobina en la sangre es total (Ruud, 1954; Andriashev, 1965; Iwami y Kock, 1990; Eastman, 1999). La falta de eritrocitos reduce la viscosidad de la sangre, que aumenta considerablemente a bajas

temperaturas, dificultando la circulación (Ruud, 1954; Andriashev, 1987). Las especies de esta familia han desarrollado modificaciones fisiológicas y adaptaciones compensatorias a la baja capacidad de la sangre de transportar oxígeno, de diversas formas: la vascularización de la piel cubre todo el cuerpo, la mayor parte del intercambio gaseoso se produce no a través de las branquias, sino a través de la piel de todo el cuerpo, particularmente, en la cavidad bucal y en las aletas, y el volumen sanguíneo del corazón es hasta 3 veces mayor que en otros grupos de peces (Andriashev, 1987).

Es una familia endémica de la Antártida, sólo una especie, *Champscephalus esox*, se encuentra en la región sur de Patagonia. Componen esta familia 11 géneros y 15 o 16 especies (Fischer y Hureau, 1985).

La mayoría de las especies viven en profundidades menores a los 800 metros. Es la familia con mayores tallas dentro de los *Notothenioidei*, algunos de sus representantes pueden alcanzar los 750 mm (Iwami y Kock, 1990).

Son principalmente peces bentónicos, pero muestran una activa migración vertical para capturar presas pelágicas. Se alimentan básicamente de "krill", *Euphausia superba* y *E. crystallorophias*, y es posible que la evolución y diversificación de esta familia esté asociada a este recurso alimentario (Eastman, 1993). Su cuerpo está débilmente osificado, con la mayor parte del cráneo y cintura pectoral compuestas de cartílago (Eastman, 1990, 1999) y no poseen vejiga gaseosa al igual que los demás representantes del suborden

Notothenioidei. Las larvas parecen ser pelágicas, algunas por períodos de hasta un año (Kellerman, 1989).

Las especies de esta familia que fueron estudiadas se detallan a continuación:

- *Champscephalus esox* Günther, 1861
- *Cryodraco antarcticus* Dollo, 1900

*Champscephalus esox* (Figura 29) se distribuye en la zona sur de Patagonia, islas Malvinas, estrecho de Magallanes y, raramente, en las islas Georgias del Sur, con un rango de profundidad entre los 50 y 250 metros. Esta especie se explota comercialmente y alcanza una talla de 350 mm (Iwami y Kock, 1990).

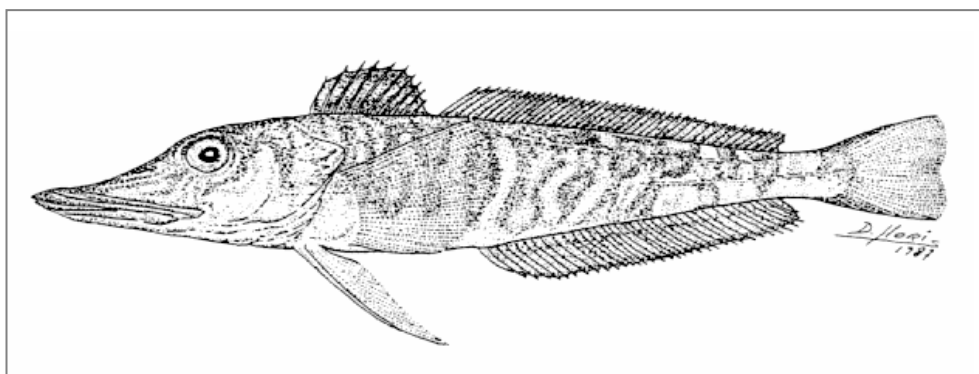


Figura 29: *Champscephalus esox*.

*Cryodraco antarcticus* (Figura 30): esta especie posee una distribución circum-antártica en la plataforma continental en profundidades entre los 250 y 800 metros (Iwami y Kock, 1990).

La biología reproductiva de esta especie prácticamente se desconoce (Iwami y Kock, 1990). En el Mar de Weddell el desove tendría lugar a fines del verano y la eclosión se produciría durante el invierno o primavera (Kock y Jones, 2002).

Su dieta se basa principalmente en eufausiáceos, misidáceos y peces (Kock *et al.*, 1994). Alcanzan tallas de 650 mm y muestran un marcado dimorfismo sexual en cuanto a la talla. Por ejemplo, en el estudio realizado por Kock y Jones (2002), todos los individuos de más de 490 mm de LT eran hembras.

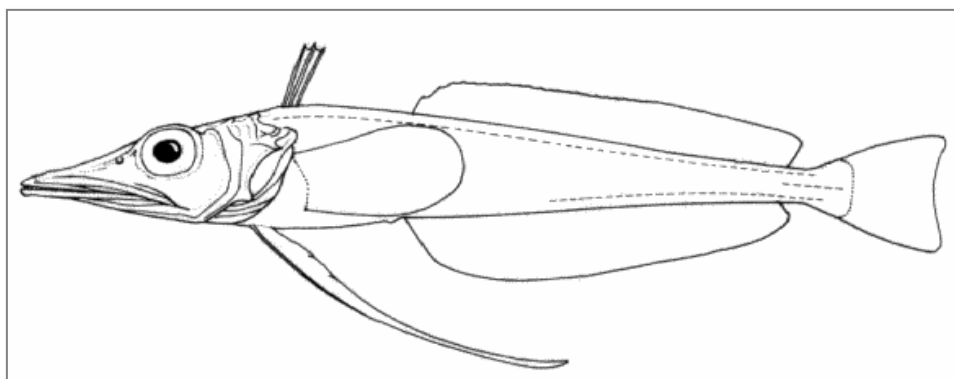


Figura 30: *Cryodraco antarcticus*.

#### 2.5.4 Familia Harpagiferidae

Esta familia contiene un sólo género, *Harpagifer*, con 6 especies (Hureau, 1990). Comprende ejemplares de pequeña talla (70 a 100 mm), bentónicos, que se alimentan de pequeños crustáceos (Hureau, 1990; Duarte y Moreno, 1981). Muestran un crecimiento lento, maduran entre los 3 y 5 años, con tallas superiores a los 75 mm LT (North y White, 1987). Los huevos son bentónicos (Hureau *et al.*, 1978) y las larvas tienen una larga fase pelágica (Kock y Kellerman, 1991). Los adultos habitan aguas costeras y pozas de marea, en algunos casos, bajo las rocas (Eastman, 1993). Aunque se ha registrado su presencia en zonas más profundas, por ejemplo, Matallanas (1990) reporta la presencia de *H.georgianus* en la isla Shetland del Sur a 352-412 metros, la mayor profundidad registrada para esta familia.

Los representantes de esta familia se encuentran en ambas regiones antártica y subantártica, más asociados a las islas subantárticas que a los márgenes continentales (Eastman, 1993), solo una especie, *H. antarcticus*, se distribuye en la zona de la Península Antártica y otra especie, *H. bispinis*, en el extremo sur de Sudamérica (Hureau, 1990). Según el trabajo de Lloris *et al.* (1996) donde se discuten distintos aspectos taxonómicos y zoogeográficos de este género, la distribución de *Harpagifer* también abarca las islas Malvinas.

En el caso de *H. antarcticus* se sabe que es una especie longeva, de crecimiento lento y que, posiblemente, muestra cuidados parentales (Daniels, 1979; Kock, 1985).

La única especie estudiada de esta familia fue *Harpagifer spinosus* Hureau, Louis, Tomo y Ozouf, 1980

*Harpagifer spinosus* (Figura 31) se encuentra en aguas a profundidades entre los 80 y 180 metros en las cercanías de las islas Crozet y Kerguelen (Hureau, 1990); Matallanas (1997) señala también la presencia de esta especie en las islas Orcadas del Sur. Alcanza una talla máxima de 80 mm (Hureau, 1990), no se tiene conocimiento acerca de su biología.

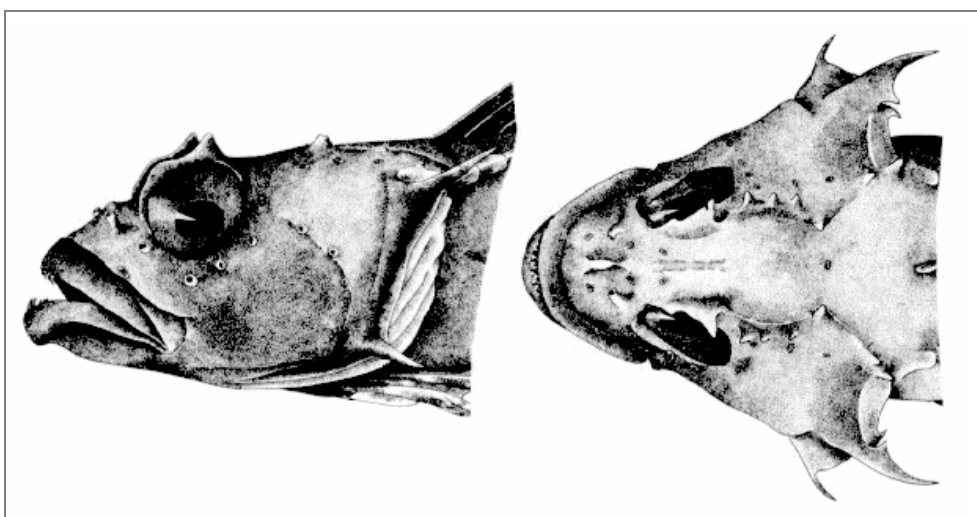


Figura 31: *Harpagifer spinosus* (detalle vista lateral y dorsal).



### **3. Importancia del estudio de la reproducción en Notothenioidei.**

Como se ha explicado anteriormente, las temperaturas de las aguas del Océano Antártico exhiben poca variación estacional. A pesar de la alta estabilidad de la temperatura en la columna de agua, cercana al punto de congelación del agua de mar, existe una marcada estacionalidad en otros factores como la formación de capas de hielo y períodos de luz, y sujeta a estos cambios, una extrema estacionalidad en la producción primaria.

Las aguas de plataforma y talud están dominadas, en términos de biomasa y diversidad, por un solo suborden endémico: Notothenioidei. Como en la mayoría de los vertebrados, la reproducción de los peces es un fenómeno cíclico. En los teleósteos en general, esta periodicidad es anual y se rige por las variaciones estacionales de las condiciones ambientales. Se ha sugerido, como norma general, un acoplamiento espacio-temporal de los ciclos reproductivos con los ciclos de producción primaria. Sin embargo, algunas de las especies antárticas parecen desviarse de este criterio. El desacoplamiento de los ciclos reproductivos con las fluctuaciones temporales de la producción primaria podría representar una ventaja evolutiva para algunas especies, dado que su éxito reproductivo constituiría un suceso independiente de las variaciones anuales (North y White, 1987).

Para una comprensión de la biología de los peces que viven en las peculiares condiciones que impone el Océano Austral, es de gran interés el estudio de sus adaptaciones. En los Notothenioidei, la reproducción parece ser un parámetro

clave de estas adaptaciones (Kock y Kellerman, 1991). Dado que han experimentado una gran radiación adaptativa, es de suma importancia apreciar si las estrategias reproductivas que presentan sufrieron también cambios a lo largo de su historia evolutiva. Es decir, examinar si los parámetros que describen la biología reproductiva de las especies, presentan alguna particularidad relacionada con el resto de las adaptaciones que presenta este grupo.

Dada la gran crisis a nivel mundial a la que se enfrenta la industria pesquera en estos últimos años, la vasta reserva íctica de los mares de la Antártida convierte a esta región en un importante foco de interés comercial. Actualmente muchas especies del suborden Notothenioidei son explotadas comercialmente. Algunos estudios preliminares mostraron que los recursos ícticos parecen ser limitados y altamente vulnerables a una explotación intensa (Kock y Köster, 1990). Para ambos sectores del Océano Austral, el Océano Atlántico e Índico, existe una urgente necesidad de conocer el estado de las poblaciones de manera que puedan adoptarse medidas de manejo adecuadas.

El ciclo de vida de dichas especies puede reconstruirse describiendo las etapas que componen la ovogénesis y la maduración sexual, las características del desove y la fecundidad, proporcionando así conocimientos básicos sobre su biología. Disponer de información de esta clase es de radical importancia a la hora de planificar actividades pesqueras en la Antártida.

### 3. Objetivos

Los objetivos generales de la presente tesis se pueden resumir en dos ítems:

Primero. - Caracterización de las particularidades del ciclo reproductivo de las siguientes nueve especies de Nototenioidae: *Artedidraco orianae*, *Pogonophryne marmorata*, *Dolloidraco longedorsalis*, *Bathhydraco macrolepis*, *Gerlachea australis*, *Akarotaxis nudiceps*, *Champocephalus esox*, *Cryodraco antarcticus* y *Harpagifer spinosus*.

Segundo. - Estudio y discusión de las relaciones entre las estrategias reproductivas de las diferentes especies y las peculiaridades ambientales que presenta el océano Austral.

Para la realización de dichos objetivos generales, se deben llevar a cabo los siguientes objetivos particulares, para cada una de las especies:

- Caracterización de los ciclos de ovogénesis
- Estudio del proceso de maduración gonadal
- Análisis de los parámetros de la fecundidad

**CAPÍTULO II**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**

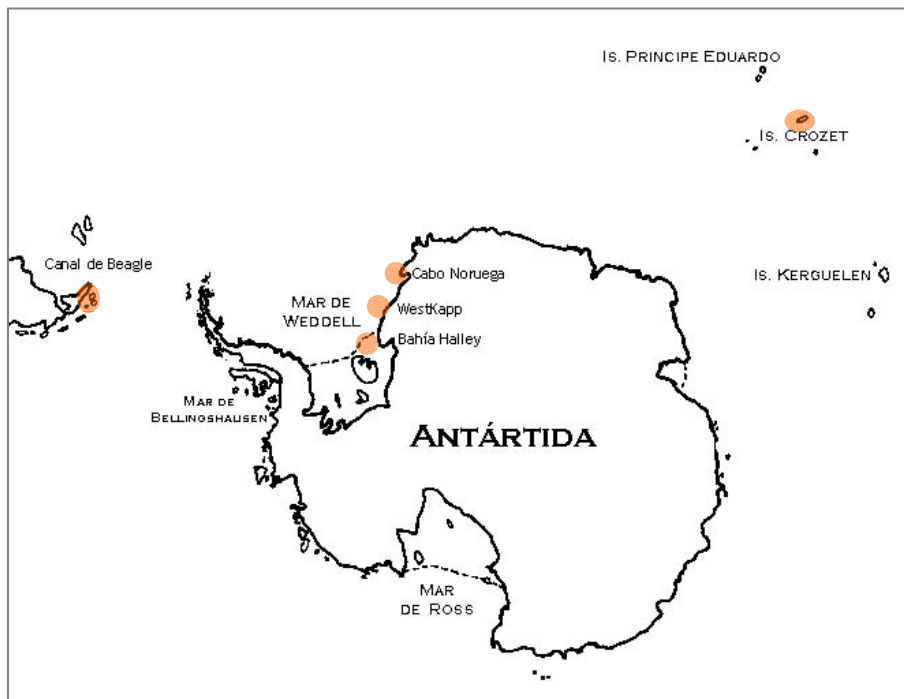
## 1. MATERIAL

### 1.1 Procedencia de los ejemplares.

Los ejemplares estudiados en el presente trabajo fueron colectados en diversas campañas realizadas en el Océano Austral entre los años 1974 y 1989. A continuación, en la Tabla IV, se detallan las localidades y fechas de captura y en la Figura 32 se muestra la ubicación geográfica de las localidades; en el Apéndice I se presenta información más detallada acerca de las campañas.

**Tabla IV:** Localidades y fechas de captura de los ejemplares estudiados.

<b>Especie</b>	<b>Código</b>	<b>Localidad</b>	<b>Fecha</b>
<i>Artedidraco orianae</i>	ArOr	Bahía Halley y Cabo Noruega	Febrero
<i>Dolloidraco longedorsalis</i>	DoLo	Bahía Halley	Enero-Febrero
<i>Pogonophryne marmorata</i>	PoMa	Bahía Halley	Febrero
<i>Akarotaxis nudiceps</i>	AkNu	Cabo Noruega	Enero-Febrero
<i>Bathyraco macrolepis</i>	BaMa	Bahía Halley y Cabo Noruega	Febrero
<i>Gerlachea australis</i>	GeAu	Bahía Halley	Enero-Febrero
<i>Champscephalus esox</i>	ChEs	Canal de Beagle	Marzo
<i>Cryodraco antarcticus</i>	CrAn	Bahía Halley	Febrero
<i>Harpagifer spinosus</i>	HaEs	Islas Crozet	Febrero-Abril



**Figura 32:** Ubicación de las localidades donde se realizaron las capturas de los especímenes estudiados.

## 1.2 Identificación de las especies.

Previamente a realizar la disección de los ejemplares para la extracción de sus gónadas, se procedió a la clasificación rigurosa de todos y cada uno de ellos. En este proceso se han utilizado distintas fuentes bibliográficas, aunque únicamente se reseñan las más destacadas. Así, para la clasificación hasta nivel de familia (Arteidraconidae, Bathydraconidae, Channichthyidae, Harpagiferidae), se ha seguido a Gon y Heemstra (1990). Una vez dentro de cada familia, los ejemplares han sido determinados hasta nivel específico

siguiendo a los autores que, en cada caso, a continuación se citan. Artedidraconidae (Eakin, 1990); debido a que los Artedidraconidae constituyen la familia de Notothenioidei menos conocida taxonómicamente (se han descrito varias especies nuevas en los últimos años y otras han sido invalidadas), se han consultado numerosos trabajos, entre los cuales cabe destacar el de Balushkin y Eakin (1998). Bathydraconidae (Gon, 1990; Skóra, 1995); Channichthyidae (Iwami y Kock, 1990; Balushkin, 1996); Harpagiferidae (Hureau, 1990).

### **1.3 Extracción y conservación de las gónadas.**

Una vez extraídas, las gónadas fueron fijadas en una solución de formaldehído al 10% y luego conservadas en etanol al 70%.

### **1.4 Composición de la muestra**

En la Tabla V se detalla la composición de la muestra, en cuanto a familias, especies, número de ejemplares estudiados por especie y los rangos de tallas de dichos ejemplares.

**Tabla V:** Composición de la muestra..

<b>Familia</b>	<b>Especie</b>	<b>N</b>	<b>Rango de tallas (mm)</b>
Arteidraconidae	<i>A. oriana</i>	9	105 - 155
	<i>D. longedorsalis</i>	8	106 - 123
	<i>P. marmorata</i>	2	143 - 157
Bathydraconidae	<i>A. nudiceps</i>	2	120 - 127
	<i>B. macrolepis</i>	5	249 - 284
	<i>G. australis</i>	5	200 - 239
Channichthyidae	<i>C. esox</i>	5	186 - 371
	<i>C. antarcticus</i>	5	357 - 416
Harpagiferidae	<i>H. spinosus</i>	15	72 - 96

En la revisión realizada por West (1990) acerca del desarrollo ovárico en teleósteos, se sugiere que no existen diferencias entre los ovarios izquierdo y derecho en cuanto al tamaño promedio de los ovocitos y a la distribución de frecuencia de tallas. Con el fin de descartar un posible sesgo en la muestra, se tomaron submuestras al azar de cada uno de los ovarios, para cada especie, y se realizó un estudio preliminar de la distribución de tallas de los ovocitos en los ovarios. Dado que no se encontraron diferencias significativas en la distribución de tallas de los ovocitos entre los ovarios derecho e izquierdo, se maximizó el aprovechamiento del material estudiando distintos parámetros reproductivos y aplicando diferentes análisis sobre cada uno de los ovarios.



## **2. MÉTODOS**

---

### **2.1 Consideraciones generales**

Dado que se han relevado distintos aspectos relacionados con el ciclo reproductivo y a fin de facilitar la lectura de este apartado, a continuación se presenta un resumen de la metodología utilizada.

Con el fin de caracterizar el aparato reproductor de los especímenes estudiados, en primer lugar se llevó a cabo una descripción de la anatomía externa de las gónadas; luego de este examen macroscópico, se separaron los ovarios. Uno de ellos, el izquierdo, fue sometido a distintos protocolos de inclusión y tinción para su análisis histológico. Este análisis comprendió la identificación de las distintas etapas de la ovogénesis, conteo y estimación del diámetro medio de los ovocitos y la estimación del grado de madurez a partir del estadio de desarrollo y morfología de los ovocitos. El ovario derecho fue utilizado para el cálculo de la fecundidad. La información obtenida independientemente a partir de ambos procedimientos es complementaria, y será la base de la discusión acerca del tipo de estrategia reproductiva adoptado por las especies.

## 2.2 Análisis histológico

*Hay un hombre escondido,  
Mira con un solo ojo  
de cíclope eficiente,  
son minúsculas cosas,  
sangre,  
gotas de agua,  
mira  
y escribe o cuenta,  
allí en la gota  
circula el universo...*

Pablo Neruda.

Luego de la observación macroscópica, los restos de tejido mesentérico que rodeaban los ovarios fueron desprendidos manualmente con pinzas, bajo lupa binocular cuando fue necesario. Las gónadas se pesaron (peso total =  $pg$ ) en una balanza *Sartorius analytic* con precisión de 0,0001g. Posteriormente se separaron ambos lóbulos. Para describir las diferentes etapas de maduración de los ovocitos, se procedió de la siguiente manera: el ovario izquierdo fue seccionado en tres porciones: anterior, media y posterior. A cada una de las submuestras, (que comprendió una sección transversal completa del ovario) se aplicó el protocolo de análisis histológico que se detalla a continuación.

### *Deshidratación*

Se deshidrataron las muestras en series crecientes en gradación de alcoholes. Inmediatamente después de la deshidratación siguió un aclarado con xilol.

### *Inclusión en parafina*

Se realizaron 3 inclusiones sucesivas en parafina (temperatura de fusión 60°C). Los procesos de deshidratación, aclarado e inclusión en parafina se llevaron a cabo utilizando un procesador de tejidos automático (Shandon Citadel Tissue Processor, modelo *Citadel 1000*).

### *Elaboración de los bloques*

Finalizada la inclusión se procedió a la elaboración de los bloques, teniendo especial cuidado en la orientación de la pieza dentro de cada bloque. Cada bloque fue debidamente rotulado hasta su posterior corte en micrótopo.

### *Obtención de los cortes al micrótopo*

Los cortes de los bloques fueron realizados en un micrótopo marca *Microm*, modelo *HM 330*. Las gónadas maduras se fragmentan con mayor facilidad que aquellas poco maduras, las cuales permiten realizar cortes más finos. Consecuentemente, el grosor de los bloques osciló entre los 5 y los 16  $\mu\text{m}$ , dependiendo de la consistencia de cada tejido. Una vez realizados los cortes, estos se pasaron a un baño de agua destilada a 45°C hasta que se observó que los cortes estuvieran totalmente estirados. Luego se recogieron sobre un portaobjetos previamente tratado con *Poly-L-Lysine* (Merck). El tratamiento de los portaobjetos con este producto asegura una buena adhesión del corte al mismo. Las preparaciones así obtenidas fueron secadas en estufa a 37-40°C durante 12-18 h y luego almacenadas.

### *Desparafinado de los cortes*

El desparafinado consiste en baños sucesivos de xilol, alcoholes de diversas gradaciones y finalmente agua destilada. Una vez superada la fase del desparafinado (o hidratación), se procedió a realizar las tinciones.

### *Tinción de los cortes*

Con el fin de distinguir las distintas estructuras que se manifiestan a lo largo del desarrollo del ovocito y las variaciones en su composición, se realizaron tres tipos de tinciones diferentes:

*Tinción con Hematoxilina-Eosina:* es una de las coloraciones más usadas ya que permite distinguir estructuras generales, separando las mismas por las características ácidas o básicas de los diferentes tejidos (Hinton, 1990). Esta coloración se utilizó como tinte general.

*Coloración tricrómica de Mallory:* esta coloración fue empleada para diferenciar entre estructuras citoplasmáticas y material intercelular; se siguió el protocolo sugerido por Humanson (1979).

*Reacción del Ácido Peryódico-Schiff:* uno de los tintes más comúnmente utilizados para la demostración de mucopolisacáridos neutros es la técnica de P.A.S o reacción del Ácido Peryódico-Schiff (Martoja y Martoja, 1970).

*Deshidratación y montaje*

Los cortes teñidos fueron deshidratados en series crecientes de alcoholes y aclarados con xilol. Luego de deshidratadas, las preparaciones fueron montadas empleando el medio de montaje *Merckcoglas* (Merck).

La observación preliminar de las preparaciones se efectuó mediante un microscopio óptico *Leitz*.

### 2.3 Caracterización de la ovogénesis

Para realizar la caracterización de la ovogénesis en las distintas especies se realizó una descripción de los acontecimientos que tienen lugar en las células a lo largo de la misma.

El desarrollo de los ovocitos a lo largo del ciclo reproductivo suele dividirse en distintas etapas o estadios según la morfología que presentan. En general suelen dividirse en dos grandes fases: Fase de Crecimiento Primario y Fase de Crecimiento Secundario. La Fase de Crecimiento Primario incluye a las oogonias, y las etapas nucleocromatínica y perinuclear. La Fase de Crecimiento Secundario contiene a las etapas de alvéolos corticales y las etapas vitelogénicas y por último la etapa de madurez. Para describir la morfología de los ovocitos y así poder caracterizar los distintos estadios del desarrollo, se tuvieron en cuenta las siguientes estructuras:

Ovocito: se consideró su tamaño (diámetro medio), su forma general y su ubicación topográfica en el ovario.

Núcleo: se consideró su tamaño (diámetro medio), su forma general (esférica, irregular, elipsoide) y su ubicación en la célula (central, desplazado hacia uno de los polos).

Membrana nuclear: se consignó la forma de la misma.

Nucleolos: se consideró su cantidad, su ubicación en el núcleo (periféricos, centrales) y su forma (esférica, estrellada).

Citoplasma: se tuvo en cuenta su apariencia (granulado, liso, etc.).

Alvéolos corticales: se consignó su cantidad, su ubicación (perinucleares, periféricos) y su tamaño (diámetro).

Gránulos de vitelo: se consideró su cantidad, su ubicación (periféricos, rodeando al núcleo, ocupando toda la célula) y su tamaño (diámetro).

Zona radiada: se midió su espesor y se observó la presencia de estriaciones y capas.

Granulosa: se consignó su espesor y la forma de las células que la constituían.

Sobre la base del estado de cada una de estas estructuras, que se manifiestan diferencialmente en el ovocito según su grado de desarrollo, se definieron las etapas de la ovogénesis para cada especie. Asimismo, la afinidad de dichas estructuras por los colorantes utilizados varía a lo largo del desarrollo, lo que resulta de gran utilidad a la hora de caracterizar las etapas. Por ejemplo, para determinar el comienzo de la Fase de Crecimiento Secundario, se utiliza la reacción de PAS, ya que con esta se tiñen los polisacáridos de los alvéolos corticales (Khoo, 1979).

Se definieron, de forma general, los siguientes estadios de desarrollo de los ovocitos siguiendo la clasificación de Mayer *et al.* (1988) y observaciones propias:

*Fase de Crecimiento Primario*

Oogonias: células pequeñas, redondeadas, con un alto coeficiente nucleoplasmático. Generalmente se encuentran agrupadas.

Etapa Nucleocromatínica (NC): los ovocitos primarios contienen un gran núcleo central con un bajo número de nucleolos.

Etapa Perinuclear (PN): los ovocitos en esta fase, aumentan de tamaño y el coeficiente nucleoplasmático, en general, decrece. El núcleo tiene posición central y se observan numerosos nucleolos en su periferia.

*Fase de Crecimiento Secundario*

Etapa de Alvéolos Corticales I (ACI): el tamaño celular sigue aumentando y se distinguen los primeros alvéolos corticales (AC) en la zona cortical externa.

Etapa de Alvéolos Corticales II (ACII): los AC aumentan en tamaño y número, ocupando la mayor parte de la célula. Comienza a distinguirse la zona radiata (ZR).

Etapa de Vitelo I (VI): en la zona cortical externa se observan los primeros gránulos de vitelo de pequeño tamaño, entremezclados con los AC. La ZR se hace más prominente.

Etapa de Vitelo II (VII): el núcleo permanece en posición central, y los gránulos de vitelo se han multiplicado y aumentado su tamaño, ocupando extensamente la zona cortical externa. Se diferencian dos capas en la ZR.

Etapa de Vitelo III (VIII): el coeficiente nucleoplasmático es muy bajo, los gránulos de vitelo comienzan a fusionarse en



la zona central. El núcleo comienza a desplazarse hacia el polo animal. En ambas capas de la ZR se distinguen claramente las estriaciones.

Etapa Madura (Mad): los gránulos de vitelo se hallan totalmente fusionados, formando placas; el núcleo se disuelve, y el tamaño del ovocito aumenta considerablemente.

Atrésicos (atr): células que degeneran y son absorbidas, la ZR toma una forma convoluta y comienza a quebrarse, las células de la granulosa proliferan e invaden el ovocito.

Folículos post-ovulatorios (POF): una vez producida la ovulación, la capa folicular se colapsa y permanece en el ovario como un folículo post-ovulatorio. Las capas foliculares se pliegan y las células de la granulosa se elongan, tomando el conjunto una forma muy irregular con el interior vacío.

Además, se calculó la Relación Nucleoplasmática (NC), que da una noción del crecimiento del núcleo con respecto al de la célula. El cálculo se realizó de acuerdo al siguiente cociente:

$$NC = \frac{V_N}{V_C - V_N}$$

donde  $V_N$  es el volumen del núcleo y  $V_C$  el volumen celular.

### 2.3.1 Distribución de frecuencias de los ovocitos

El análisis de la distribución de frecuencias del diámetro de los ovocitos permite establecer los distintos patrones de desarrollo de los ovocitos (Forberg, 1982; DeVlaming, 1983; West, 1990) y también definir el estadio de madurez gonadal (ver sección 2.4). En consecuencia, se estudiaron los diámetros de los ovocitos en cada etapa y la distribución de frecuencias de los mismos en cada ovario.

Con el fin de descartar variaciones debido a las deformaciones propias del procesamiento histológico, el diámetro de los ovocitos se obtuvo como el promedio de los diámetros máximo y mínimo (Foucher y Beamish, 1980; Hay *et al.*, 1987), tomados en planos perpendiculares. Se midieron de esta forma aquellos ovocitos que hubieran sido seccionados a través del núcleo. Debido a la disolución del núcleo durante la etapa Madura, los ovocitos en esta fase fueron medidos teniendo en cuenta los posibles errores de medición.

Las mediciones de los ovocitos se realizaron mediante un analizador de imágenes *Leica Q500 Mc* (v01.02-1995) para entorno Windows (Microsoft). Para realizar las mediciones se analizó un mínimo de 150 ovocitos por especie; en total se analizaron aproximadamente 7.000 ovocitos (ver Tabla VIII, en el capítulo de Resultados).

De cada ovocito se consignó su diámetro y se le asignó una de las ocho etapas de desarrollo según las características citológicas descritas anteriormente (véase sección 2.3).

Debido al amplio rango de diámetros que mostraron los ovocitos, el solapamiento de los mismos entre las distintas etapas de desarrollo y el posible encogimiento debido a la fijación, la asignación de las etapas se basó en la apariencia histológica y en la estructura de la célula, más que en el diámetro del ovocito.

Con el fin de evaluar *a posteriori* si existen diferencias en el diámetro de los ovocitos, se calculó una prueba t de Student para muestras independientes entre las etapas de desarrollo.

### 2.3.2 Distribución topográfica de los ovocitos en el ovario

Para comprobar si la distribución de los ovocitos en los distintos estadios de desarrollo es uniforme a través del ovario, se comparó la distribución de frecuencias de los ovocitos en cada submuestra, tanto en sentido longitudinal como transversal.

De cada ovocito estudiado se consignó su ubicación en el ovario. Para el caso del estudio de la existencia de variación en el eje antero-posterior, se consignaron tres posiciones: anterior (A), media (M) y posterior (P). La muestra de cada ovario destinada a la medición bajo microscopio estuvo formada por *un corte* de la parte anterior, otro de la parte media, y otro de la parte posterior.

Con respecto a la ubicación transversal, *todos los ovocitos de cada corte* fueron medidos, consignándose si pertenecían a la periferia (p), la parte media (m) o el centro del ovario (c).

Las diferencias en las distribuciones de frecuencias de los ovocitos en distintos estadios de desarrollo en función de su posición antero-posterior y transversal se evaluaron mediante pruebas de Kolmogorov-Smirnov (Sokal y Rohlf, 1997). Éste es un test no paramétrico aplicable a distribuciones de frecuencias continuas y que en muchos casos posee mayor potencia que el test del chi-cuadrado para bondad de ajuste. El test está basado en las diferencias entre las frecuencias acumulativas observadas y esperadas. Estas diferencias se expresan como diferencias entre las frecuencias acumulativas relativas, pudiéndose encontrar valores críticos tabulados y decidir si la diferencia máxima entre la distribución de frecuencias acumulativas observadas y esperadas es significativa (Sokal y Rohlf, 1997).

Aunque el test de Kolmogorov-Smirnov supone variables distribuidas de forma continua, se utiliza a menudo en el caso de variables discretas porque en estos casos el error de Tipo I no es mayor que el que se produce utilizando las tablas de Kolmogorov-Smirnov (Sokal y Rohlf, 1997). Además, el test resulta especialmente ventajoso con muestras de pequeño tamaño, ya que no es necesario agrupar clases. Este ítem tiene particular importancia en la muestra presentada aquí, dada la elevada fragmentación del diseño impuesta por los numerosos estadios de madurez.

Para evitar las diferencias en el patrón de distribución de los ovocitos en la topología del ovario provocadas por los diferentes estadios de madurez, y diferencias inter-específicas, las comparaciones de Kolmogorov-Smirnov fueron realizadas agrupando ejemplares de la misma especie y del mismo estadio de madurez.

## **2.4 Madurez gonadal**

La determinación de la madurez gonadal es de suma importancia para el conocimiento de la biología reproductiva de una población. Así, la información obtenida de este modo puede emplearse para establecer la edad y talla en la que los peces alcanzan la madurez sexual, el momento y el lugar del desove y la duración del ciclo reproductivo.

A fin de establecer el grado de madurez gonadal de los ejemplares estudiados, se llevó a cabo un examen macroscópico de las gónadas. Para ello se observaron las gónadas a simple vista o bajo lupa binocular y se consignó su forma general, coloración, consistencia, vascularización superficial y espesor y transparencia de la pared (factores, estos últimos estimados indirectamente a partir de la posibilidad de observar los ovocitos a través de la misma).

Existe cierta controversia acerca de la precisión de las clasificaciones basadas solamente en la apariencia externa de los órganos sexuales (West, 1990) y también en cuanto a las etapas que deberían componer las mismas. Por ejemplo, mientras que Qasim (1973) sugiere que no es posible proponer una escala generalizada, Treasurer y Holliday (1981) consideran mínima la variación en el desarrollo de las gónadas y sugieren que debería reducirse el número de escalas de madurez propuestas para teleósteos. Para no incurrir en errores, se establecieron las etapas de madurez gonadal

teniendo en cuenta conjuntamente los aspectos macroscópicos y aquellos proporcionados por el análisis histológico, considerando además la información aportada por el estudio de la distribución de frecuencias de los ovocitos.

Los diferentes estadios de madurez gonadal se establecieron, entonces, teniendo en cuenta la distribución de los ovocitos en las distintas etapas y según la siguiente clasificación (Tabla VI), basada en la propuesta por Everson (1977) y Kock y Kellerman (1991)

**Tabla VI:** Breve caracterización de cada una de las Fases de Madurez Gonadal:

	<b>Fase</b>	<b>Descripción macroscópica</b>	<b>Descripción histológica</b>
I	Inmaduro	Ovarios pequeños, sin ovocitos visibles	Presencia de oogonias y ovocitos en etapas de NC y PN
II	En desarrollo	Ovarios más grandes, granuloso. Ovocitos muy pequeños, visibles a la lupa.	Ovocitos en NC, PN, ACI y ACII
III	En maduración	Ovarios grandes, ovocitos visibles a simple vista	Ovocitos en todas las etapas de desarrollo, POF ausentes
IV	Maduro	Ovarios grandes de consistencia granular, ovocitos grandes, visibles.	Ovocitos en las últimas etapas de desarrollo en su mayoría, presente una segunda camada de ovocitos en FCP
V	Post-puesta	Ovarios flácidos.	Ovocitos en las primeras etapas de desarrollo, laminillas ováricas irregulares, presencia de POF

## 2.5 Fecundidad

Una vez pesadas las gónadas, el ovario izquierdo se destinó al análisis histológico (tal como se detalla en el apartado 2.3) y el ovario derecho se utilizó para el estudio de la fecundidad. La fecundidad puede definirse de manera sencilla como el número de ovocitos producidos por una hembra en un año (Bagenal, 1973).

Para el cálculo de la fecundidad se siguió el método gravimétrico (Bagenal, 1978; Lisovenko y Zakharov, 1988). De cada ovario se obtuvieron tres submuestras, correspondiendo aproximadamente al 10% del peso total de la gónada (Cowx, 1990), una de la parte anterior, otra de la media y otra de la parte posterior. Se pesó cada una de las submuestras con una balanza *Sartorius analytic* con precisión de 0,0001 g.

Para la disgregación de las gónadas se sumergió a las mismas en líquido de Gilson, modificado por Simpson (1951), el cual ha sido utilizado por diversos autores en un amplio espectro de especies (Bagenal, 1978). Este líquido se compone de:

Alcohol 60°	100 ml
Agua destilada	880 ml
Ácido nítrico al 80%	15 ml
Ácido acético glacial	18 ml
Cloruro mercúrico	20 mg



Los frascos conteniendo las submuestras fueron agitados periódicamente a fin de facilitar la penetración del líquido en los tejidos para disgregar totalmente los ovocitos. El tiempo necesario aproximado para la total disgregación fue de 3 meses.

Una vez disgregadas las submuestras se procedió a filtrarlas, para lo cual se dispuso de un juego de filtros de diámetro de poro de 125 a 2000  $\mu\text{m}$ , colocando los de mayor diámetro en la parte superior. Se pasó la submuestra al primer filtro de la columna y se sometió a la misma a un lavado suave con agua para eliminar los restos de estroma ovárico y para que los ovocitos fueran descendiendo hasta quedar retenidos en el filtro correspondiente a su diámetro. Una vez realizado el filtrado se separaron los ovocitos según su diámetro y se procedió al conteo de los mismos.

El conteo de los ovocitos se realizó manualmente bajo lupa binocular. Se consideraron los ovarios en fases de madurez gonadal de III en adelante, ya que se considera que éstos serían los ovarios prontos a desovar en la temporada estudiada.

### 2.5.1 *Cálculo de la Fecundidad*

La fecundidad individual o absoluta (F), también llamada fecundidad potencial por Kock (1989) se define como el número de ovocitos producidos por una hembra en un año, lo que

equivale al número de ovocitos maduros presentes en el ovario en el momento inmediatamente anterior al desove (Bagenal, 1973). El término potencial asignado a la fecundidad se refiere al hecho de que un porcentaje de los ovocitos maduros no serán desovados y se convertirán en atrésicos durante el período de post-puesta (Kock, 1989). Para calcularla se utiliza la fórmula:

$$F = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{PG \cdot n_i}{b_i}$$

donde N es el número de submuestras, PG es el peso total de las gónadas,  $b_i$  es el peso de la submuestra  $i$  y  $n_i$  es el número de ovocitos vitelogénicos en la submuestra  $i$ .

## 2.6 Comparación de metodologías

La fijación de los ovarios ocasiona cambios en la talla de los ovocitos, además el procesamiento histológico produce encogimiento de los ovocitos así como también considerables distorsiones en aquellos que se hallan en etapas avanzadas de madurez (West, 1990).

Con el fin de comparar las distribuciones de frecuencias de tallas de los ovocitos obtenidas a partir del análisis histológico y a partir del estudio de fecundidad, se compararon ambos resultados mediante una prueba de Kolmogorov-Smirnov. Esta prueba no paramétrica se basa en las diferencias absolutas entre las distribuciones de frecuencias acumuladas de ambas muestras y examina las diferencias en la forma de las distribuciones (Sokal y Rohlf, 1997).

## 2.7 Terminología

Existe gran controversia en la literatura con respecto a los términos utilizados tanto en las descripciones a nivel histológico como macroscópico de las distintas etapas de desarrollo de los ovocitos y del ovario. Algunos autores incluyen en sus trabajos tablas con vocablos análogos a fin de minimizar las confusiones (Forberg, 1982; Mayer *et al.*, 1988). Con la intención de simplificar la lectura del presente manuscrito y para posibilitar comparaciones, en la Tabla VII se detallan algunos de los términos y abreviaturas usados.

**Tabla VII:** Terminología utilizada en este estudio y términos análogos usados por otros autores.

Terminología utilizada	Terminología análoga
Fase de Crecimiento Primario (FCP)	Previtelogénesis Período de crecimiento lento Fase de crecimiento protoplasmático
Fase de Crecimiento Secundario (FCS)	Vitelogénesis Período de crecimiento rápido. Fase de crecimiento trofoplasmático
Zona Radiata (ZR)	Zona Pelúcida (Guraya, 1978) Corion (Balinsky, 1970) Membrana vitelina (Selman y Wallace, 1989) Envoltura primaria (Wourms, 1997)
Alvéolos corticales	Vesículas vitelinas (Wallace y Selman, 1981; Macchi y Barrera Oro, 1995) Vitelo intravesicular Vacuolas Gránulos corticales Cuerpos esféricos
Gránulos de vitelo	Esferas vitelinas Cuerpos vitelinos Vitelo extravascular Glóbulos de vitelo (Macchi y Barrera Oro, 1995)

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS**

## **RESULTADOS**

---

En este apartado se exponen los resultados obtenidos en los distintos análisis realizados. En un principio se considerarán los aspectos generales acerca de la caracterización de la ovogénesis y luego, se enunciarán los resultados especie por especie. En este último caso, los resultados enunciados se han expuesto en tres niveles: primero, se agruparon los resultados por grado de madurez gonadal; segundo, se realizó una síntesis de dichos resultados, y por último en los Apéndices II y III se detallan los resultados obtenidos por individuo.

Para cada especie se brinda una breve descripción de las gónadas y se caracterizan los distintos estadios de la ovogénesis en base a las observaciones y mediciones realizadas a partir del material histológico. Luego se exponen los resultados del análisis de frecuencia de los ovocitos en los diversos estadios de desarrollo y la asignación de las distintas fases de madurez. Por último, en aquellos casos en que fue posible, se describen los resultados obtenidos en el estudio de fecundidad.

## 1. Caracterización de la ovogénesis

### 1.1 Distribución de frecuencias de los ovocitos

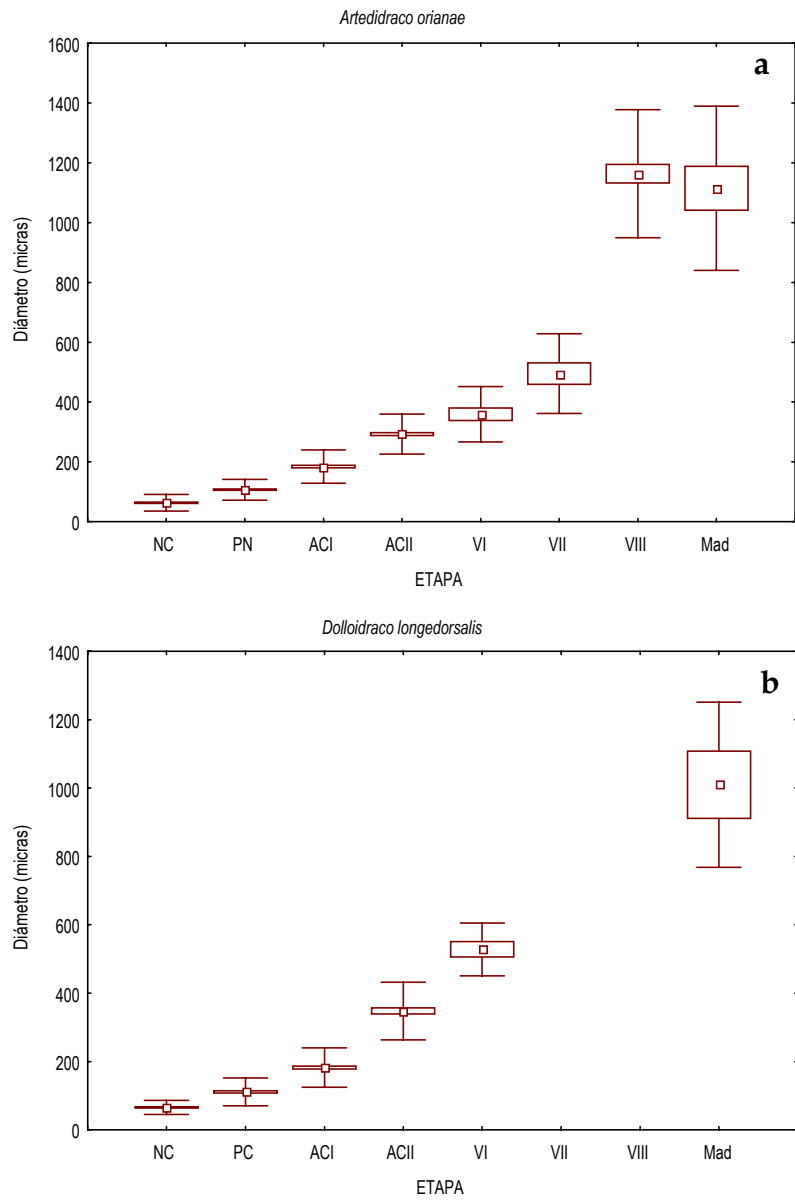
Se analizaron 7.021 ovocitos en total; su distribución por especie y por etapa de desarrollo se detalla en la Tabla VIII.

**Tabla VIII:** Número de ovocitos estudiados en cada etapa, por especie.

Especie / Etapa	NC	PN	ACI	ACII	VI	VII	VIII	Mad	Total
<i>A. orianae</i>	188	276	184	196	20	14	48	14	940
<i>D. longedorsalis</i>	184	171	158	97	12	-	-	6	628
<i>P. marmorata</i>	65	191	75	7	-	-	-	-	338
<i>A. nudiceps</i>	43	50	29	54	-	-	-	-	176
<i>B. macrolepis</i>	111	126	51	21	-	-	6	68	383
<i>G. australis</i>	52	82	59	94	1	3	35	75	401
<i>C. esox</i>	239	149	143	361	-	-	79	42	1013
<i>C. antarcticus</i>	391	698	538	231	-	-	-	-	1858
<i>H. spinosus</i>	192	322	119	76	92	117	251	115	1284
<b>Totales</b>	<b>1465</b>	<b>2065</b>	<b>1356</b>	<b>1137</b>	<b>125</b>	<b>134</b>	<b>419</b>	<b>320</b>	<b>7021</b>

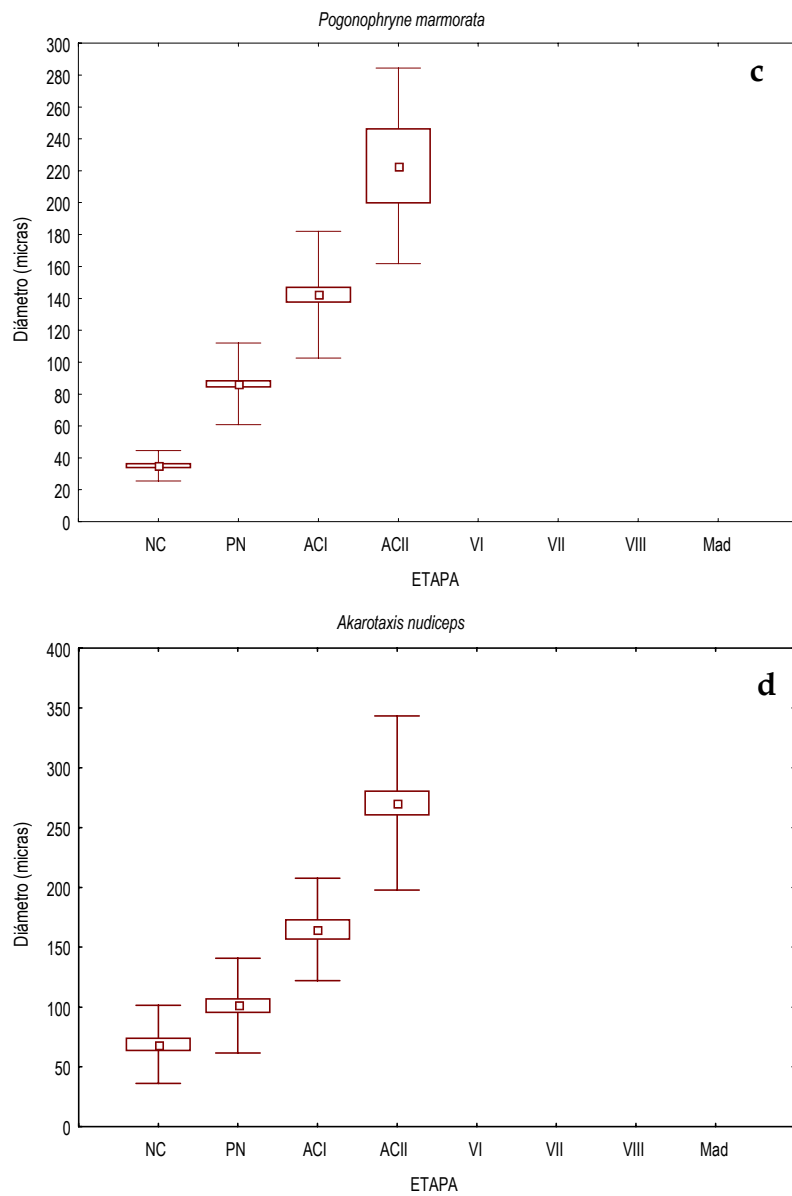
Los resultados de la prueba t de Student mostraron que, en la mayoría de los casos (93%), las medias de los diámetros de los ovocitos en cada etapa difieren significativamente ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencias significativas entre las medias de las tallas de los ovocitos entre la etapa de Vitelo III (VIII) y la etapa Madura en *Artedidraco orianae* y *Bathhydraco macrolepis* y entre la etapa de Vitelo I (VI) y la etapa de Vitelo II (VII) en *Gerlachea australis*.

En la Figura 33(a-i), se puede observar la comparación de los valores de los estadísticos descriptivos del diámetro de los ovocitos entre las distintas etapas, por especie.



**Figura 33 a, b:** Comparación de los estadísticos descriptivos básicos del diámetro de los ovocitos en cada etapa. a: *Artedidraco orianae*; b: *Dolloidraco longedorsalis*; cubo: media, caja: error estándar, llave: desvío estándar.





**Figura 33 c, d:** Comparación de los estadísticos descriptivos básicos del diámetro de los ovocitos en cada etapa. c: *Pogonophryne marmorata*; d: *Akarotaxis nudiceps*; cubo: media, caja: error estándar, llave: desvío estándar.

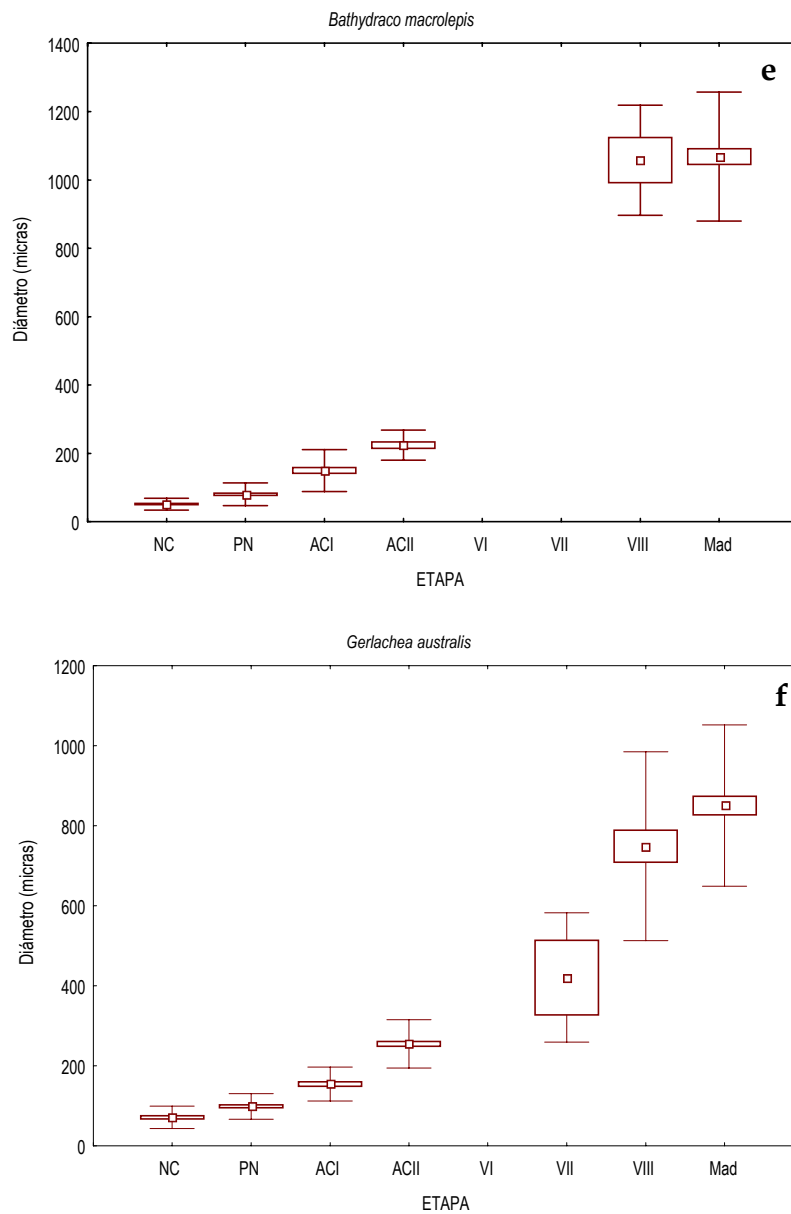
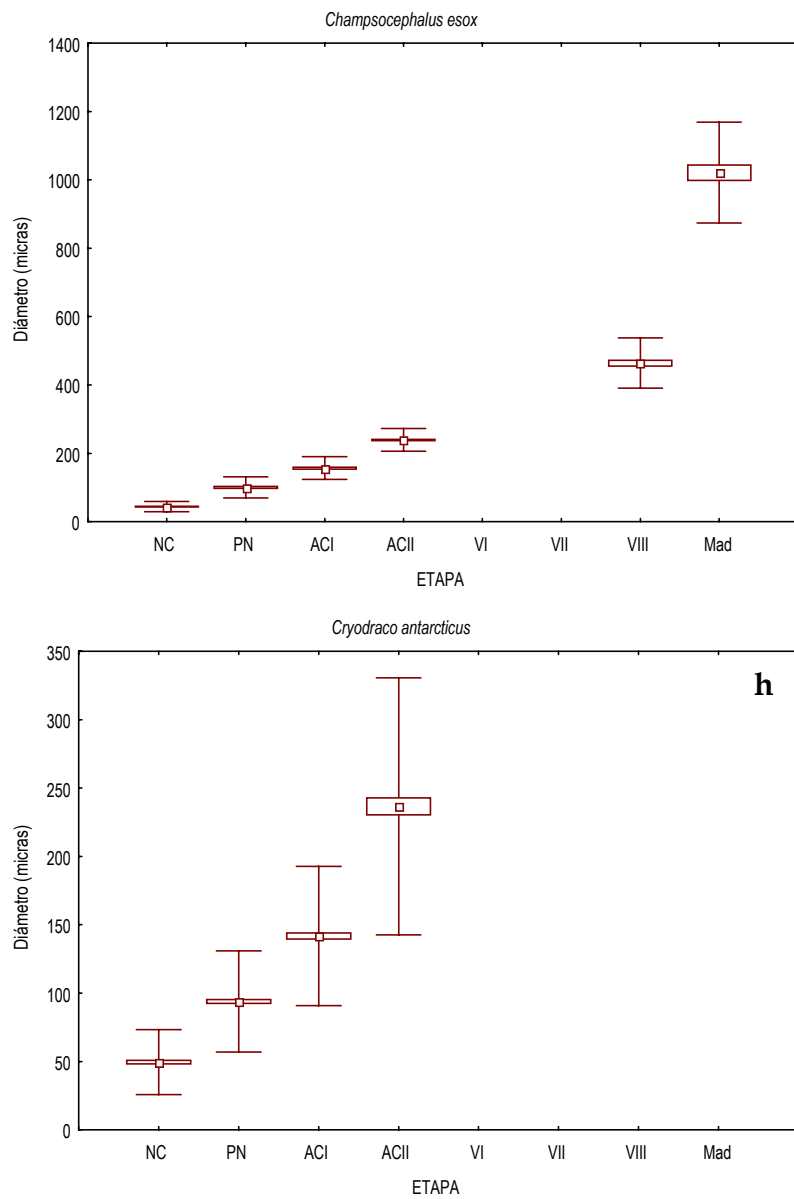
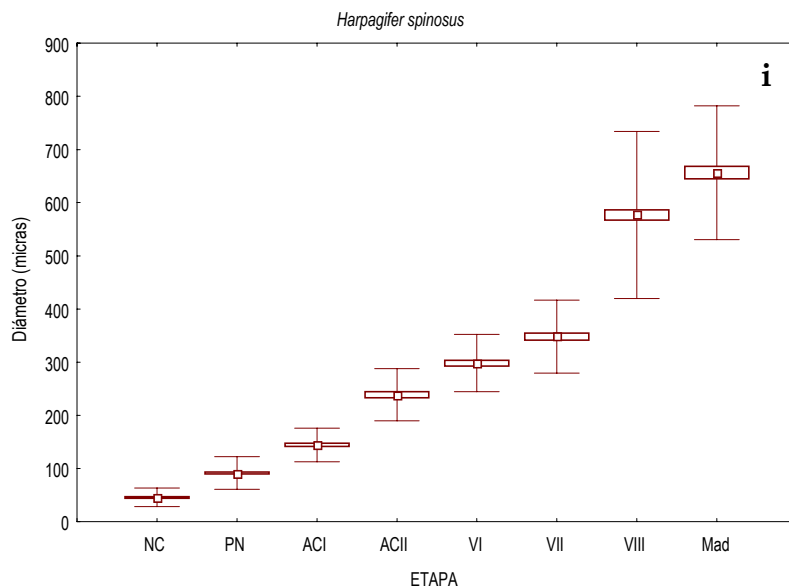


Figura 33 e, f: Comparación de los estadísticos descriptivos básicos del diámetro de los ovocitos en cada etapa. e: *Bathyraco macrolepis*; f: *Gerlachea australis*; cubo: media, caja: error estándar, llave: desvío estándar.



**Figura 33 g, h:** Comparación de los estadísticos descriptivos básicos del diámetro de los ovocitos en cada etapa, g: *Champsocephalus esox*; h: *Cryodraco antarcticus*; cubo: media, caja: error estándar, llave: desvío estándar.



**Figura 33 i:** Comparación de los estadísticos descriptivos básicos del diámetro de los ovocitos en cada etapa. i: *Harpagifer spinosus*; cubo: media, caja: error estándar, llave: desvío estándar.

## 1.2 Distribución topográfica de los ovocitos en el ovario

Bien en función del eje antero-posterior, bien en función del eje transversal, todos los conjuntos especie-estadio de madurez ovárica mostraron diferencias significativas en la distribución de frecuencias de los ovocitos en distintas etapas (Tabla IX).

**Tabla IX:** Resultados de las comparaciones Kolmogorov-Smirnov de distribución de frecuencias de ovocitos en función de la ubicación a lo largo del eje antero-posterior (A, anterior; M, medio; P, posterior) y transversal (c, centro; m, medio; p, periferia). \*:  $p < 0,05$ ; ns: no significativo; en blanco: no es posible realizar la comparación. AkNu, *A. nudiceps*; ArOr, *A. orianae*; BaMa, *B. macrolepis*; ChEs, *C. esox*; DoLo, *D. longedorsalis*; GeAu, *G. australis*; HaEs, *H. spinosus*.

especie	estadio de madurez	Ubicación Transversal			Ubicación Antero-Posterior		
		c vs m	c vs p	m vs p	Anterior vs Medio	Anterior vs Posterior	Medio vs Posterior
AkNu	II	ns	ns	*			
	V	*	*	ns			
ArOr	II	ns	ns	ns			ns
	III	ns	*	*			
	IV	*	*	*	*	*	*
	V	ns	*	*	*	*	*
BaMa	I	ns	*	ns			
	II	*	*	*			
	IV	ns	*	*			*
ChEs	II	*	*	*	*	*	*
	IV	*	ns	*	*	*	*
	V	ns	*	*	*		
CrAn	I	*	*	ns			
	II	ns	*	*	*	*	*
DoLo	III	ns	*	*	*	*	*
	IV	ns	*	ns			
	V	*	*	ns	ns	*	*
GeAu	II	ns	ns	ns			
	IV	*	ns	*		*	
HaEs	II	*	ns	ns			
	III	*	ns	*	*	*	*
	IV	ns	ns	ns	*	*	*
PoMa	I	*	ns	*		ns	
	II	*	*	*	ns	ns	ns

Como puede observarse en esta tabla, parece existir una tendencia clara en diferentes especies y estadios de madurez a una estratificación antero-posterior, salvo para el caso de *P. marmorata* (II), donde las diferencias en este eje fueron no significativas. En muchos casos el análisis no pudo llevarse a

cabo dado que el tamaño del ovario impedía una separación entre las regiones anterior, media y posterior.

En lo que respecta al eje transversal, no existe un patrón claro, aunque las diferencias son frecuentes. Salvo para *A. oriana* (II), *G. australis* (II) y *H. spinosus* (IV), todas las comparaciones restantes presentaron alguna diferencia significativa entre las regiones transversales del ovario, sin que parezca existir una preferencia clara por regiones centrales, medias, o periféricas.

Este patrón de diferencias en la distribución de ovocitos a través de la topología del ovario se evidencia complejo, y determina, de alguna manera, la metodología correcta a seguir para tener una muestra sin sesgos tanto en el presente estudio como en trabajos futuros. Así, un análisis correcto de la ovogénesis debería centrarse en muestras tomadas al azar de diferentes regiones del ovario, con el fin de evitar regiones en las cuales determinadas morfologías celulares estén sub-representadas.

En lo subsiguiente, el análisis de la ovogénesis se centrará, para cada ejemplar, en una muestra de ovocitos (entre 20 y 80) tomada aleatoriamente de diferentes regiones del ovario, con el fin de estimar el estadio de madurez y otros atributos cito-morfológicos de la manera menos desviada estadísticamente.

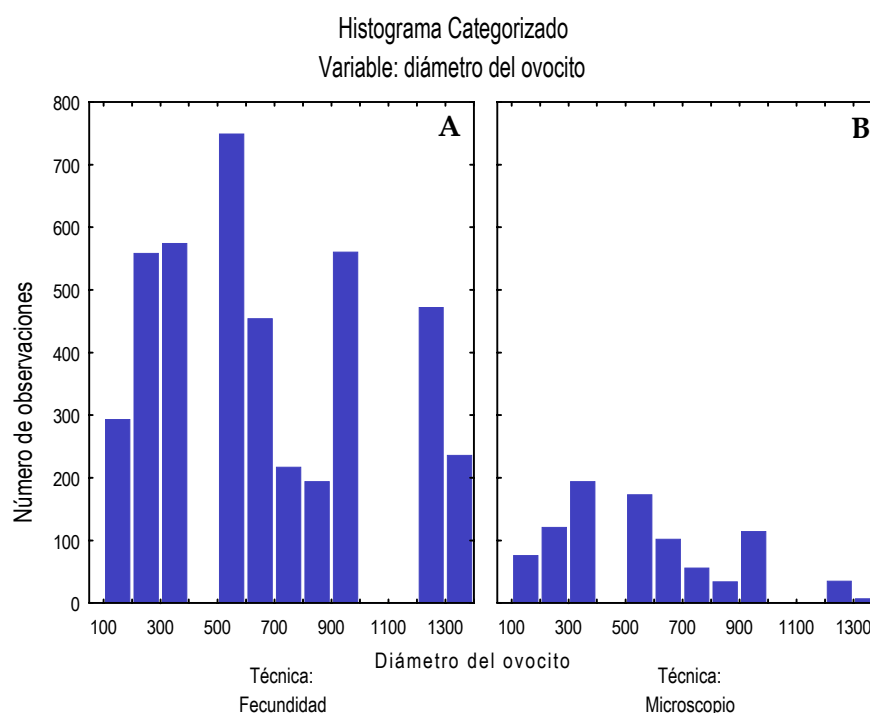
### 1.3 Comparación de metodologías.

Al comparar las distribuciones de frecuencias de tallas de los ovocitos obtenidas mediante el análisis histológico y a partir del estudio de fecundidad, mediante una prueba de Kolmogorov-Smirnov, se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla X y la Figura 34.

En el análisis histológico se midió menor cantidad de ovocitos que en el estudio de fecundidad debido al diseño intrínseco de cada una de las técnicas. Por ello se escogió el test de Kolmogorov-Smirnov para comparar ambas distribuciones de frecuencia, ya que esta prueba estima las diferencias en la forma de las distribuciones, a pesar de las diferencias en el tamaño de la muestra.

**Tabla X:** Valores de la prueba Kolmogorov-Smirnov. F: a partir del estudio de Fecundidad, M: a partir del estudio histológico.

Rango tallas ( $\mu\text{m}$ )	D	Nivel de significación	Media F	Media M
200-1400 (rango total)	0,131	$p < 0,001$	708,47	600,05
200-400	0,000	$p < 0,01$	319,71	330,18
600-1000	0,038	$p > 0,05$	416,28	412,94
1250-1400	0,165	$p > 0,05$	1299,99	1275,00



**Figura 34:** Distribución de las frecuencias de tallas de los ovocitos. **A:** basado en el estudio de Fecundidad, **B:** a partir del estudio histológico.

Al comparar todos los rangos de diámetros estudiados las diferencias entre ambas metodologías fueron significativas. Al analizar los grupos de rangos por separado, los resultados variaron (Tabla X). En el caso de las tallas pequeñas las diferencias también fueron significativas, pero en el caso de tallas mayores a 600  $\mu\text{m}$  no hubo diferencias en las distribuciones de frecuencias entre ambas técnicas.

Aunque la probabilidad de seccionar a un ovocito es proporcional a su diámetro y por lo tanto los ovocitos más grandes tienden a estar sobrestimados y los ovocitos pequeños



subestimados (Foucher y Beamish, 1980), en el presente estudio se midieron, en general, mayor cantidad de ovocitos en las primeras etapas de desarrollo que no en las de mayor madurez. Esto es debido a que en un corte, la probabilidad de encontrar un ovocito en determinada etapa de madurez es inversamente proporcional a su talla.

Las diferencias significativas entre ambas distribuciones se deben principalmente a las diferencias en las distribuciones de las tallas pequeñas, esto indica que en ambas o alguna de las metodologías existe un sesgo al estudiar ovocitos de pequeña talla. Este factor ha de tenerse en cuenta al analizar ejemplares con tallas de ovocitos pequeñas. En el caso de tallas mayores a los 600  $\mu\text{m}$ , al no haber habido diferencias significativas, asumimos igual idoneidad en cuanto a las metodologías para estudiar las distribuciones de frecuencias de tallas. De todas maneras, para asignar los estadios de madurez gonadal, como ya se explicó en el apartado de metodología, se siguieron criterios histológicos y de la estructura celular.

## 2. Familia Artedidraconidae

### 2.1 *Artedidraco orianae*

#### 2.1.1 Anatomía de los ovarios

Esta especie presenta dos ovarios que se sitúan en la parte mediodorsal de la cavidad abdominal. Ambos ovarios presentan una sección más o menos triangular y el derecho es, por lo general, más pequeño que el izquierdo. Los ovarios se hallan unidos entre sí por tejido mesentérico, que funde en la parte posterior dando lugar al oviducto. La pared ovárica presenta dos capas musculares bien diferenciadas, una externa de tejido muscular longitudinal y una interna de tejido muscular circular y se halla profusamente irrigada por vasos sanguíneos.

Los ovarios de esta especie son de tipo cistovárico (Connaughton y Katsumi, 1998), es decir, la cavidad central u ovocele se continúa posteriormente con el oviducto. Los pliegues ováricos, conteniendo ovocitos en distinto estadio de desarrollo, llenan dicha cavidad.

#### 2.1.2 Caracterización de la ovogénesis

##### **Fase de crecimiento Primario**

Oogonias: las oogonias son pequeñas células de forma redondeada con un núcleo grande que ocupa la mayor parte del volumen celular, haciendo casi indistinguible el citoplasma,

que se tiñe débilmente con HE. Las oogonias generalmente están agrupadas (entre 3 y 15 células) ubicándose en las crestas de los pliegues ováricos (Lámina 1A).

Etapa Nucleocromatínica (NC): los ovocitos en esta etapa muestran un citoplasma más o menos liso, con menor afinidad por HE que el núcleo. El núcleo es grande, con varios nucleolos altamente basófilos, distribuidos al azar.

Etapa Perinuclear (PN): el citoplasma de los ovocitos en etapa perinuclear es liso en su mayor parte, aunque presenta un aspecto más granuloso en la zona cortical (Lámina 1B). El núcleo se ubica en la parte central de la célula y en su periferia presenta de 25 a 34 nucleolos. Éstos son esféricos y muestran una coloración roja intensa al ser tratados con tricrómico de Mallory. La envoltura del ovocito está compuesta por una capa simple de células de la granulosa de forma alargada, con núcleos altamente basófilos.

### **Fase de Crecimiento Secundario**

Etapa de Alvéolos Corticales I (ACI): el tamaño de la célula aumenta considerablemente. El citoplasma se torna menos basófilo y la zona que rodea al núcleo conforma un anillo de distinta afinidad que el resto de la célula. El núcleo se encuentra en posición central y presenta numerosos nucleolos, con forma de semiesferas, en su periferia. Comienzan a diferenciarse pequeños alvéolos corticales en la zona cortical de la célula, formando 2 o 3 capas (Lamina 1A,C). Por debajo de la capa de células de la granulosa comienza a

distinguirse una fina zona estriada que se tiñe débilmente con HE, con un espesor medio de 5,48  $\mu\text{m}$ .

Etapa de Alvéolos Corticales II (ACII): el citoplasma de los ovocitos en esta etapa se reduce a una fina zona perinuclear con afinidad distinta a la del resto de la célula y a otra banda, también muy delgada, justo por debajo de la membrana celular, de aspecto muy granulado y débilmente basófilo. En medio de estas dos bandas estrechas se aprecian los alvéolos corticales llenando toda la célula, los de mayor tamaño se encuentran hacia el centro y los más pequeños hacia la periferia. La apariencia de los alvéolos corticales es de vacuolas vacías con inclusiones en su interior que muestran una coloración azul-celeste con Mallory (Lámina 1C,D). El núcleo es redondo y se mantiene en posición central, la membrana nuclear es más o menos festoneada. Se pueden contar entre 17 y 26 nucleolos de forma elongada en la periferia del núcleo. Las células de la granulosa forman una capa simple con núcleos voluminosos y por encima se aprecia una fina capa de células foliculares, basófilas y alargadas. La zona radiata se distingue claramente por debajo de la granulosa y se aprecian dos zonas, una más interna, delgada (espesor medio 3,11  $\mu\text{m}$ ) y de color rojizo con el tricrómico de Mallory y una más externa, ancha (espesor medio 5,37  $\mu\text{m}$ ) con coloración azul-celeste con el mismo colorante (Lámina 1D).

Etapa de Vitelo I (VI): en los ovocitos en esta etapa el citoplasma se reduce a una banda en la periferia de la célula, de aspecto muy granulado, y a una zona muy estrecha en la periferia del núcleo. Se aprecian pequeños gránulos de vitelo

(de coloración naranja con Mallory) en la zona cortical de la célula y otros de mayor tamaño hacia el centro, los gránulos de vitelo de mayor tamaño que se encuentran en el centro de la célula se hallan intercalados con los alvéolos corticales (Lámina 1E). En el fino anillo de citoplasma que rodea al núcleo también pueden distinguirse gránulos de vitelo muy pequeños. La zona radiata se hace más ancha.

Etapa de Vitelo II (VII): el tamaño del ovocito sigue en aumento debido a la acumulación de vitelo. El citoplasma se reduce a una fina banda que rodea al núcleo y presenta un aspecto granuloso. El núcleo se encuentra en el centro del ovocito y presenta de 12 a 16 nucleolos de forma redondeada (Lámina 1B). Se observan gránulos de vitelo de gran tamaño en la zona central, flanqueados por bandas de gránulos de menor tamaño tanto hacia la periferia como hacia el núcleo. Entre los gránulos de vitelo de posición central todavía pueden apreciarse algunos alvéolos corticales. Se aprecia un ensanchamiento de la zona radiata interna (Lámina 1D), que alcanza un espesor medio de 5,03  $\mu\text{m}$ .

Etapa de Vitelo III (VIII): los gránulos de vitelo ocupan toda la célula y comienzan a fusionarse en la región central (presentan una coloración naranja con Mallory y de color rosa con HE). Formando una capa muy fina, justo por debajo de la envoltura celular, pueden observarse alvéolos corticales muy pequeños. Se nota un considerable aumento del tamaño del ovocito, el núcleo toma una forma estrellada y comienza su migración hacia el polo animal (Lamina 1F), se observan en su periferia nucleolos basófilos. La zona radiata aumenta su

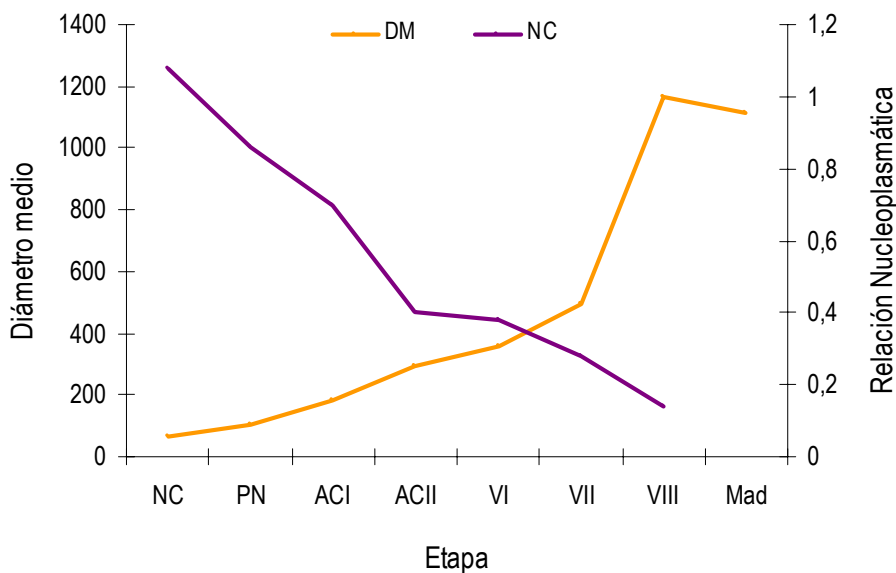
grosor (23,06  $\mu\text{m}$ ) y presenta dos bandas bien diferenciadas: la zona radiata interna (roja con Mallory) ancha y la zona radiata externa (azul-celeste con Mallory) más delgada; las estriaciones se aprecian claramente en ambas. Las células de la granulosa, con un núcleo voluminoso, basófilo, se disponen formando una capa simple por debajo de una capa muy delgada de células foliculares.

Etapa Madura (Mad): los gránulos de vitelo, altamente eosinófilos, se encuentran totalmente fusionados formando plaquetas que ocupan todo el ovocito, el núcleo no se distingue. El citoplasma se reduce a una capa muy delgada con restos de alvéolos corticales en la zona cortical. La zona radiata no muestra diferencias con respecto a la etapa anterior, presentando un grosor medio de 23,43  $\mu\text{m}$ .

Atrésicos (atr): el núcleo se degrada por completo, la zona radiata se observa fragmentada en varios puntos, formando involuciones. Las células foliculares proliferan e invaden el ovocito por las zonas fragmentadas de la zona radiata. En algunos ovocitos atrésicos se encuentran gránulos de vitelo dispersos en la célula, intercalados con material celular de diverso origen.

Folículos post-ovulatorios (POF): éstos presentan diversas formas, todas ellas de formatos irregulares. En general se observan células de la granulosa más anchas de lo habitual, constituyendo una capa invaginada y el interior del folículo se presenta vacío (Lámina 1C).

Como puede apreciarse en la Figura 35 la relación nucleoplasmática (N/C) va disminuyendo a medida que el ovocito va desarrollándose. El crecimiento más marcado en el tamaño de los ovocitos se produce entre las etapas VII y VIII debido a la incorporación de vitelo. En el Apéndice II se detallan los valores de los diámetros medios de los ovocitos en cada etapa.

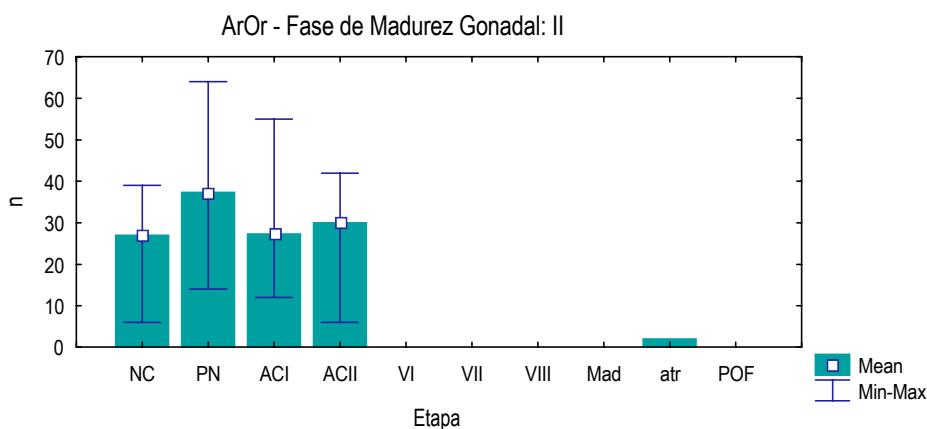


**Figura 35:** Evolución del diámetro medio de los ovocitos (DM) y de la Relación Nucleoplasmática (N/C).

### 2.1.3 Madurez gonadal

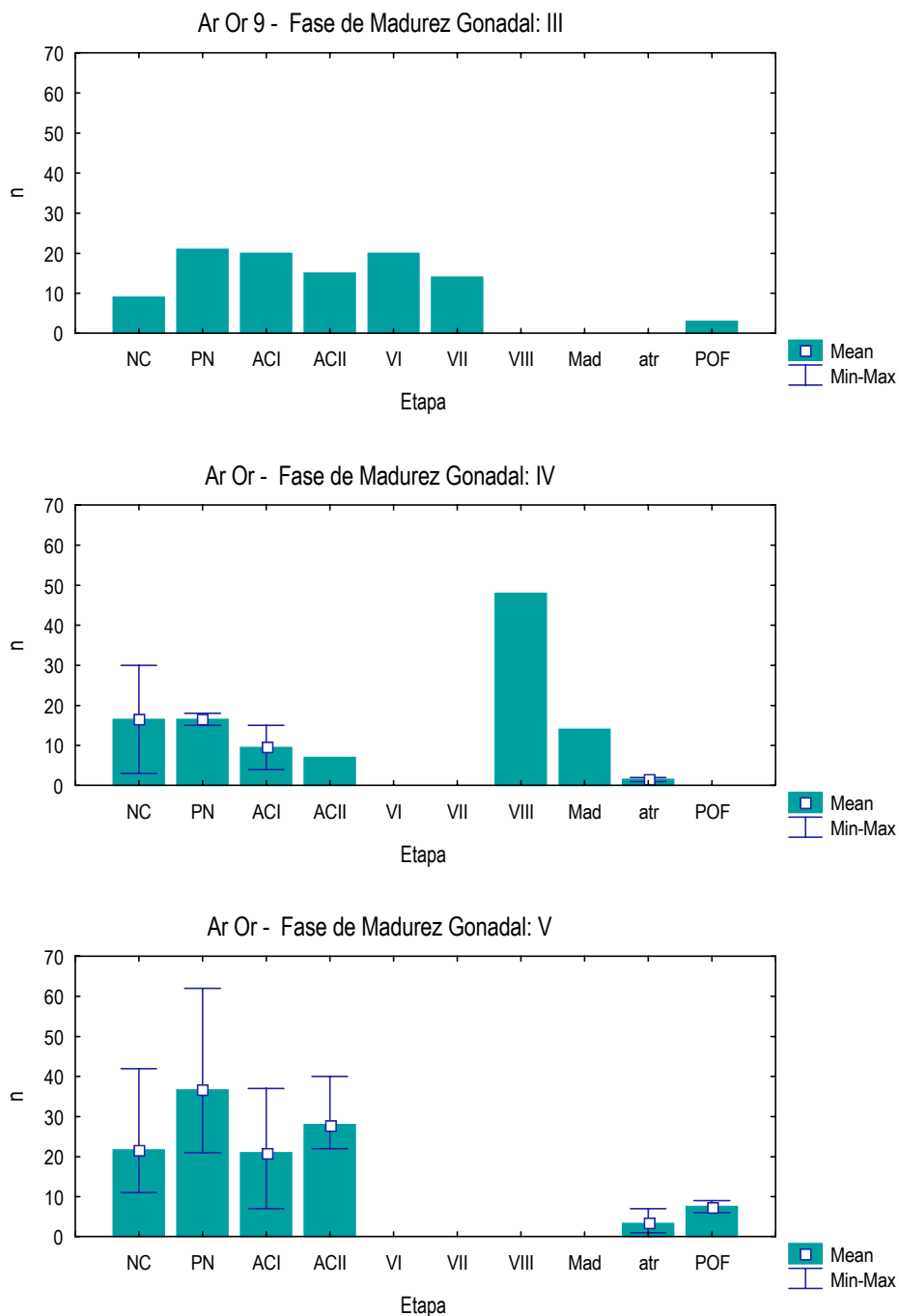
Los diversos estadios de madurez gonadal se asignaron teniendo en cuenta la apariencia del ovario, así como la distribución de frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de desarrollo obtenidas en base a la observación al microscopio, como ya se explicó en el apartado 2.4 del capítulo de Metodología.

En la Figura 36 se presentan las distribuciones de frecuencias promedio de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada una de las fases de madurez gonadal. Las distribuciones de frecuencia de los ovocitos en las distintas etapas, por individuo, se encuentran detalladas en el Apéndice III (Figura A1).



**Figura 36:** Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.





**Figura 36** (continuación): Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.

#### 2.1.4 Fecundidad

La tabla XI muestra los valores de fecundidad absoluta de los ejemplares de *Artedidraco orianae* estudiados.

**Tabla XI:** Fecundidad absoluta (Fa) en *A.orianae*.

<b>Ejemplar</b>	<b>LT(mm)</b>	<b>Madurez</b>	<b>Fa</b>
ArOr 1	155	IV	361,96
ArOr 6	132	IV	206,18
ArOr 9	147	III	482,52

## 2.2 *Dolloidraco longedorsalis*

### 2.2.1 Anatomía de los ovarios

Los ovarios de *Dolloidraco longedorsalis* son pares, unidos en su parte posterior de la cual parte el oviducto. Los ovarios tienen una sección más o menos triangular en estadios inmaduros y esférica en estadios más avanzados (Lámina 2A). La pared ovárica presenta dos capas musculares, una interna circular y una externa longitudinal, numerosos vasos sanguíneos atraviesan la pared.

Los ovarios de esta especie son de tipo cistovárico (Connaughton y Katsumi, 1998), es decir, la cavidad central u ovocele se continúa posteriormente con el oviducto. Los pliegues ováricos, en los estadios maduros, llenan dicha cavidad.

### 2.2.2 Caracterización de la ovogénesis

#### **Fase de Crecimiento Primario**

Oogonias: las oogonias forman grupos de 5 a 14 células de forma ovoide, con un gran núcleo que ocupa casi toda la célula (Lámina 2B,D).

Etapa Nucleocromatínica (NC): los ovocitos en esta etapa muestran un citoplasma homogéneo, basófilo, un núcleo de gran tamaño con numerosos nucleolos distribuidos al azar.

Etapa Perinuclear (PN): el citoplasma basófilo presenta un aspecto homogéneo en la zona central de los ovocitos

mientras que en la periferia se observa más granuloso. El núcleo se ubica en la zona central y presenta entre 40 y 57 nucleolos de forma esférica, altamente basófilos (Lámina 2A,E). Las células que componen la granulosa son alargadas y con un gran núcleo basófilo y se disponen de forma más o menos continua alrededor del ovocito.

### **Fase de Crecimiento Secundario**

Etapa de Alvéolos Corticales I (ACI): en esta fase se observa la aparición de los alvéolos corticales, que forman una corona de varias hileras en la parte media externa del ovocito. El citoplasma presenta una apariencia homogénea (Lámina 2D,E). El núcleo tiene posición central y los nucleolos redondos se encuentran en su periferia. Comienza a distinguirse una zona estriada, con un grosor medio de 6  $\mu\text{m}$ , por debajo de las células de la granulosa, que se presentan más voluminosas que en la etapa anterior.

Etapa de Alvéolos Corticales II (ACII): la delgada banda de citoplasma que rodea al núcleo muestra distinta afinidad que el resto del citoplasma en la célula. Se aprecia un incremento en el tamaño general de la célula. Los nucleolos son redondos, se encuentran en número de 40 a 50 en la periferia de un núcleo grande, central, con carioplasma más o menos liso (Lámina 2B,E). Los alvéolos corticales están dispuestos en 4 a 6 hileras formando un anillo en la parte central, los de mayor tamaño se ubican hacia la periferia y los más pequeños hacia el núcleo. Los alvéolos corticales son PAS+ observándose inclusiones en su interior. El citoplasma

por debajo de la zona radiata presenta un aspecto compacto y denso. En la zona radiata pueden distinguirse dos fases: la zona radiata interna con más afinidad por HE y más estrecha (4,19  $\mu\text{m}$ ) y la zona radiata externa, de mayor espesor (6,88  $\mu\text{m}$ ) y que se tiñe débilmente, las estriaciones de ambas se distinguen claramente (Lámina 2B). La capa de granulosa está compuesta por células alargadas que forman una capa simple.

Etapa de Vitelo I (VI): el tamaño del ovocito aumenta considerablemente en esta fase. Comienzan a vislumbrarse gránulos de vitelo muy pequeños, altamente eosinófilos. Los de menor tamaño se concentran en gran número en la periferia, por debajo de la zona radiata, mientras que los de mayor tamaño se encuentran en la zona central, aunque más dispersos, entre los alvéolos corticales. La banda de citoplasma perinuclear presenta una afinidad distinta. El núcleo es grande y central y presenta numerosos nucleolos periféricos. La zona radiata interna es más ancha que en la etapa anterior y la zona radiata externa se va adelgazando (Lamina 2C).

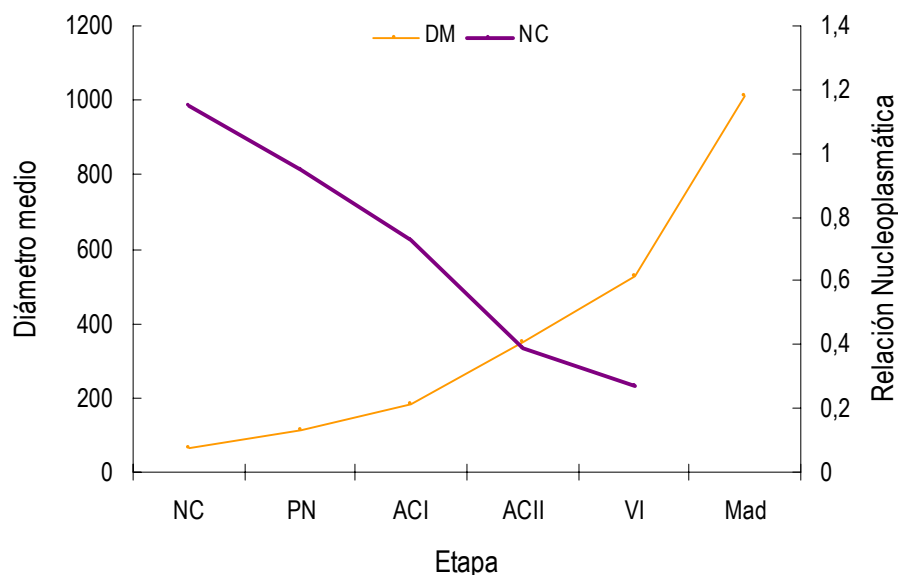
Etapa Madura (Mad): los gránulos de vitelo (de color rosa intenso con HE) se hallan fusionados, formando placas, quedando una capa extremadamente delgada de citoplasma en la periferia de la célula, que contiene algunos gránulos de vitelo y alvéolos corticales muy pequeños. La zona radiata externa es muy delgada, ambas zonas, la externa y la interna tienen un grosor medio de 28,8  $\mu\text{m}$ . Las células de la granulosa forman una capa continua de células elongadas.

Atrésicos (atr): la célula toma forma irregular, la zona radiata se halla fragmentada en varios puntos, su margen es

festoneado y algunas células de la granulosa han sido invaginadas. La coloración de las estructuras es similar a otros estadios de desarrollo (Lámina 2F).

Folículos post-ovulatorios (POF): las células de la granulosa tienen núcleo picnótico y citoplasma traslúcido. Se hallan dispuestas irregularmente, formando pliegues; el interior del folículo está vacío (Lámina 2G).

En la Figura 37 se observa la evolución de los valores de la relación nucleoplasmática (N/C), que va disminuyendo a medida que el ovocito va desarrollándose, así como el diámetro medio de los ovocitos en cada etapa.

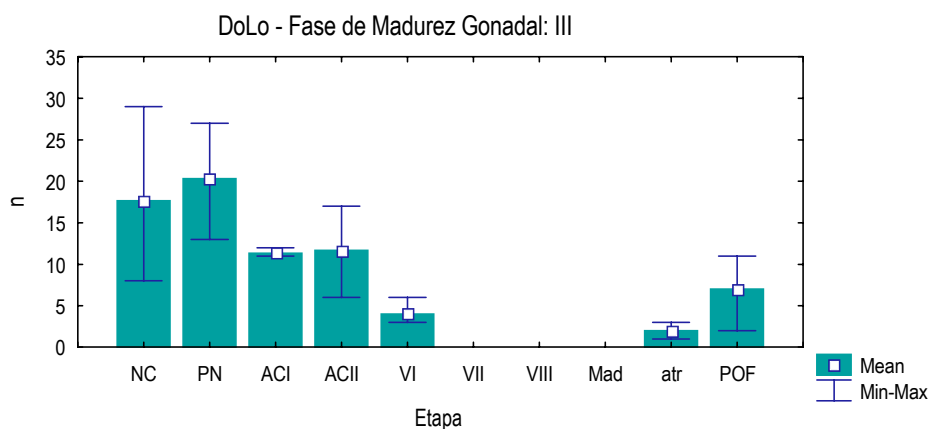


**Figura 37:** Evolución del diámetro medio de los ovocitos (DM) y de la Relación Nucleoplasmática (N/C).

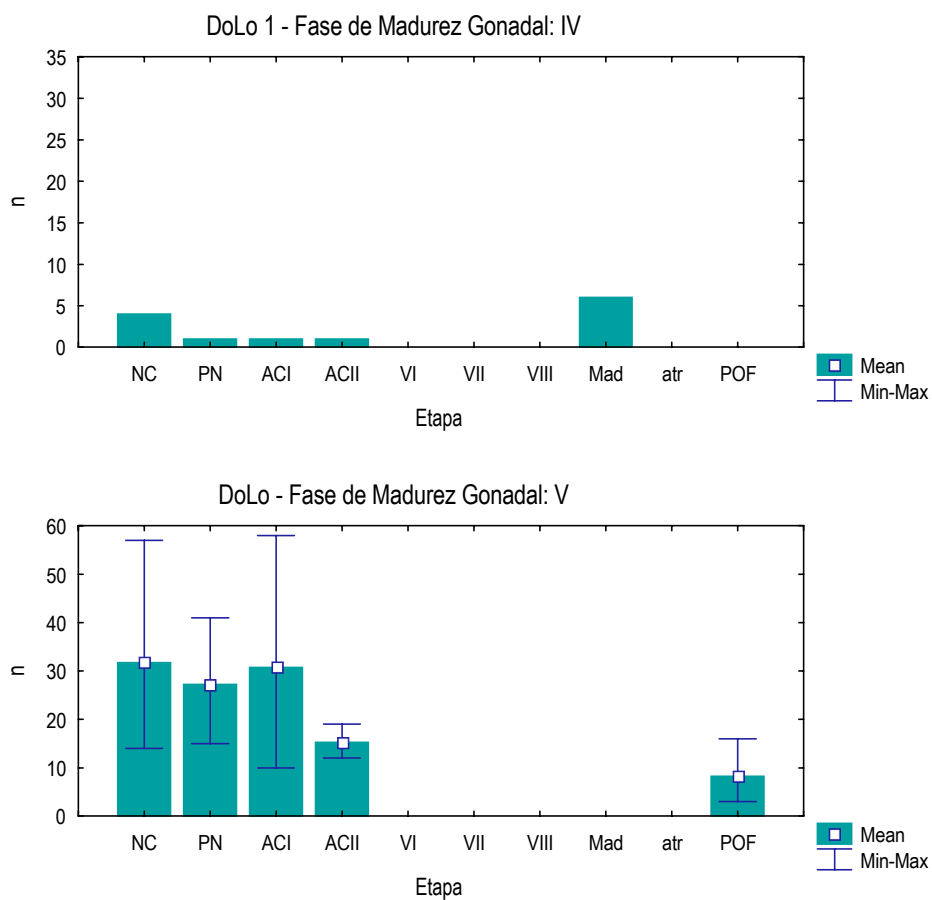
### 2.2.3 Madurez gonadal

Los diversos estadios de madurez gonadal se asignaron teniendo en cuenta la apariencia del ovario, así como la distribución de frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de desarrollo obtenidas en base a la observación al microscopio.

En la Figura 38 se presentan las distribuciones de frecuencias promedio de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada una de las fases de madurez gonadal. Las distribuciones de frecuencia de los ovocitos en las distintas etapas por individuo se encuentran detalladas en el Apéndice III (Figura A2).



**Figura 38:** Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.



**Figura 38** (continuación): Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.



## 2.3 *Pogonophryne marmorata*

### 2.3.1 Anatomía de los ovarios

Esta especie presenta dos ovarios coalescentes en su parte posterior, de la que parte el oviducto, que es único. Los ovarios son filiformes con sección plana, de color anaranjado claro. Ha de tenerse en cuenta que los ejemplares estudiados estaban inmaduros, de allí su forma y coloración.

Los ovarios son de tipo cistovárico, con el ovocele en el centro (Connaughton y Katsumi, 1998).

### 2.3.2 Caracterización de la ovogénesis

#### **Fase de Crecimiento Primario**

Oogonias: las oogonias se hallan agrupadas formando 'nidos' de 4 a 12 células. Poseen un núcleo prominente, central, altamente basófilo, con nucleolos apenas distinguibles, dispersos, poco numerosos (Lámina 3B,D).

Etapa Nucleocromatínica (NC): en los ovocitos nucleocromatínicos el citoplasma presenta un aspecto homogéneo y se tiñe de violeta con HE (Lámina 3C). El núcleo tiene posición central, es esférico y el carioplasma muestra cierta rugosidad. Se denota la presencia de numerosos nucleolos dispersos por el núcleo. Envolviendo a la célula se distingue una fina capa de células de la granulosa, que poseen núcleos altamente basófilos.

Etapa Perinuclear (PN): el ovocito aumenta de tamaño, el citoplasma se mantiene homogéneo, aunque muestra cierta rugosidad en la zona cortical. El núcleo central presenta numerosos nucleolos redondos en la periferia (Lámina 3B,C). Persiste la capa simple de células de la granulosa.

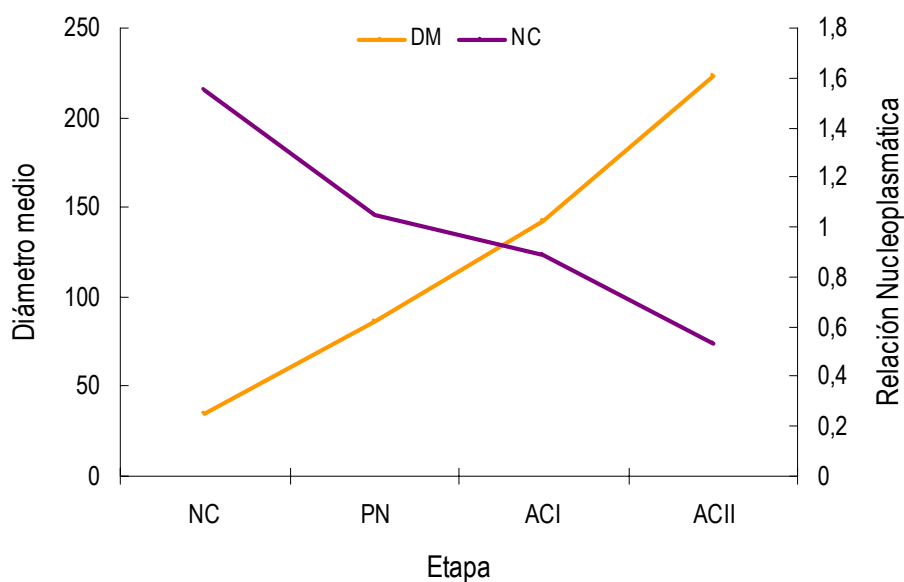
### **Fase de Crecimiento Secundario**

Etapa de Alvéolos Corticales I (ACI): continúa el aumento de tamaño de la célula, se nota un incremento en la rugosidad del citoplasma hacia la periferia y también puede observarse que una banda muy delgada de citoplasma que rodea al núcleo presenta una afinidad diferente. El núcleo sigue en posición central y presenta de 32 a 42 nucleolos esféricos en posición periférica; la membrana nuclear se muestra más o menos lisa. En la región media externa del citoplasma se distingue una corona de alvéolos corticales pequeños (Lámina 3B,C). Las células de la granulosa son aplanadas con núcleo elongado altamente basófilo y se disponen en una sola capa. Por debajo de la granulosa se observa una zona levemente estriada, acelular, que se tiñe débilmente.

Etapa de Alvéolos Corticales II (ACII): los alvéolos corticales ocupan la mayor parte de la célula, el citoplasma queda reducido a una banda cortical de alta rugosidad, conteniendo muchos alvéolos corticales pequeños y un fino anillo perinuclear. Debido a la incorporación de los alvéolos corticales el ovocito aumenta su tamaño. El núcleo se presenta liso con numerosos nucleolos periféricos, de forma redondeada que se tiñen de rojo intenso con el tricrómico de Mallory. La

zona radiata presenta una parte interna muy estrecha ( $2,21 \mu\text{m}$ ) y una zona externa, más ancha ( $3,09 \mu\text{m}$ ) y con estriaciones más evidentes.

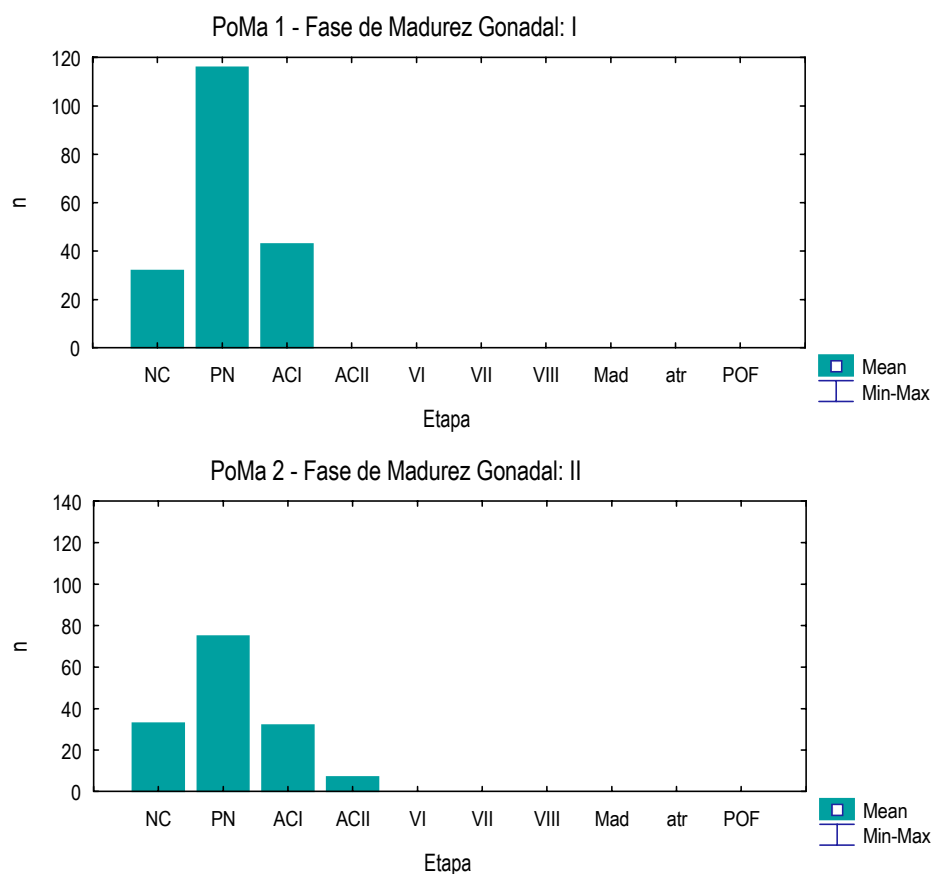
En la Figura 39 se observa la variación del diámetro medio de los ovocitos en cada etapa y la relación nucleoplasmática, también para cada etapa.



**Figura 39:** Evolución del diámetro medio de los ovocitos (DM) y de la Relación Nucleoplasmática (N/C).

### 2.3.3 Madurez gonadal

Las asignaciones de madurez gonadal se basaron en la apariencia y cantidad de los ovocitos en cada etapa, observados al microscopio. En la Figura 40 se presentan las distribuciones de frecuencias promedio de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada una de las fases de madurez gonadal. Las distribuciones de frecuencia de los ovocitos en las distintas etapas por individuo se encuentran detalladas en el Apéndice III (Figura A3).



**Figura 40:** Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.

### **3. Familia Bathydraconidae**

#### *3.1 Akarotaxis nudiceps*

##### **3.1.1 Anatomía de los ovarios**

Los ovarios se ubican en la región medio dorsal de la cavidad abdominal. Éstos se hallan unidos en la parte posterior, ambos son de tamaño similar. La forma es redondeada y presentan sección ovalada. El ovario es de tipo cistovárico. La pared está compuesta por dos capas musculares, una externa longitudinal y una interna circular.

##### **3.1.2 Caracterización de la ovogénesis**

##### **Fase de Crecimiento Primario**

Oogonias: las oogonias son células que se hallan agrupadas, presentan un gran núcleo y una delgada capa de citoplasma, que es homogénea, basófila.

Etapa Nucleocromatínica (NC): el citoplasma de los ovocitos en esta etapa es de apariencia lisa, el núcleo es central, de gran tamaño y con numerosos nucleolos distribuidos al azar. La granulosa está formada por una fina capa de células alargadas (Lámina 4A).

Etapa Perinuclear (PN): el ovocito aumenta su volumen, posee un gran núcleo central con nucleolos (de 17 a 23) en la periferia y el citoplasma presenta una mayor rugosidad hacia la zona cortical (Lámina 4A,B).

### **Fase de Crecimiento Secundario**

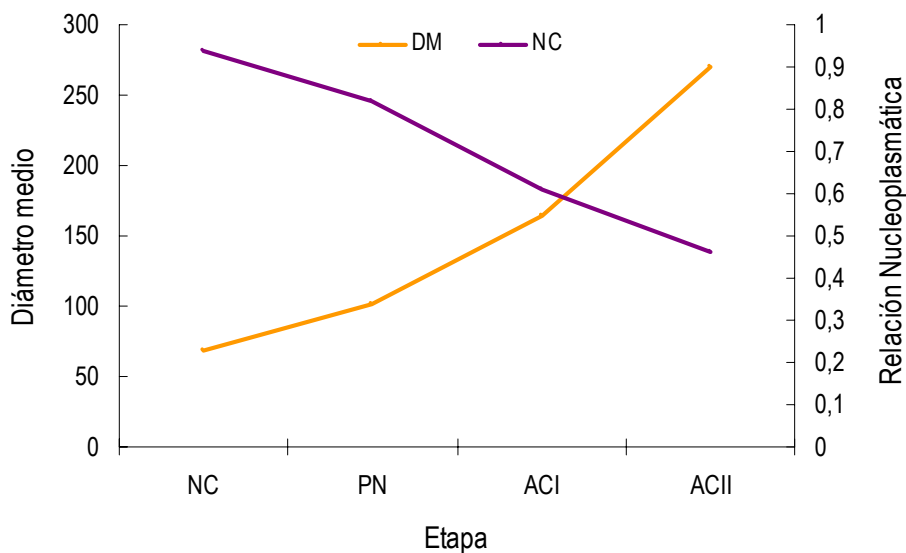
Etapa de Alvéolos Corticales I (ACI): en los ovocitos en esta etapa el citoplasma presenta una banda alrededor del núcleo con distinta afinidad que el resto; el núcleo tiene posición central, el carioplasma se presenta homogéneo y posee entre 21 y 30 nucleolos en su periferia. En esta etapa los nucleolos muestran una forma de semiesfera y son altamente basófilos. Comienzan a distinguirse entre 2 y 4 hileras de alvéolos corticales muy pequeños en la zona cortical media. Por debajo de las células de la granulosa comienza a esbozarse la zona radiata, que se tiñe débilmente con el tricrómico de Mallory.

Etapa de Alvéolos Corticales II (ACII): aumenta el tamaño celular, el núcleo se mantiene en posición central y conserva su forma esférica (Lámina 4B). Los nucleolos, entre 14 y 21, se muestran altamente basófilos, su posición sigue siendo periférica, y aunque existen 3 o 4 de muy pequeño tamaño en el centro del núcleo, su forma se mantiene igual que en la etapa anterior (Lámina 4 B,C). Los alvéolos corticales ocupan la mayor parte del ovocito; los de mayor tamaño poseen inclusiones en su interior, ubicándose en la zona central, y los de menor tamaño se encuentran hacia la zona cortical. El citoplasma se reduce a una zona perinuclear densa, poco granulada y al área cortical externa, entre los alvéolos corticales más pequeños y la zona radiata, donde exhibe una apariencia altamente granular (Lámina 4B-E). La zona de contacto con la zona radiata presenta estriaciones. La zona radiata interna es muy estrecha (3,53  $\mu\text{m}$ ), altamente basófila

mientras que la zona radiata externa es más ancha (7,11  $\mu\text{m}$ ), las estriaciones son muy evidentes y se tiñe débilmente. La granulosa está formada por células más o menos alargadas, con un gran núcleo basófilo, dispuestas en una sola capa. Por encima de esta capa se distingue el folículo formado por una fina hilera de células delgadas y aplanadas (Lámina4E).

Folículos post-ovulatorios (POF): las células de la granulosa se encogen y la capa folicular se pliega, dando al folículo una forma muy irregular. El lumen es muy reducido y contiene un poco de material granular (Lámina 4D).

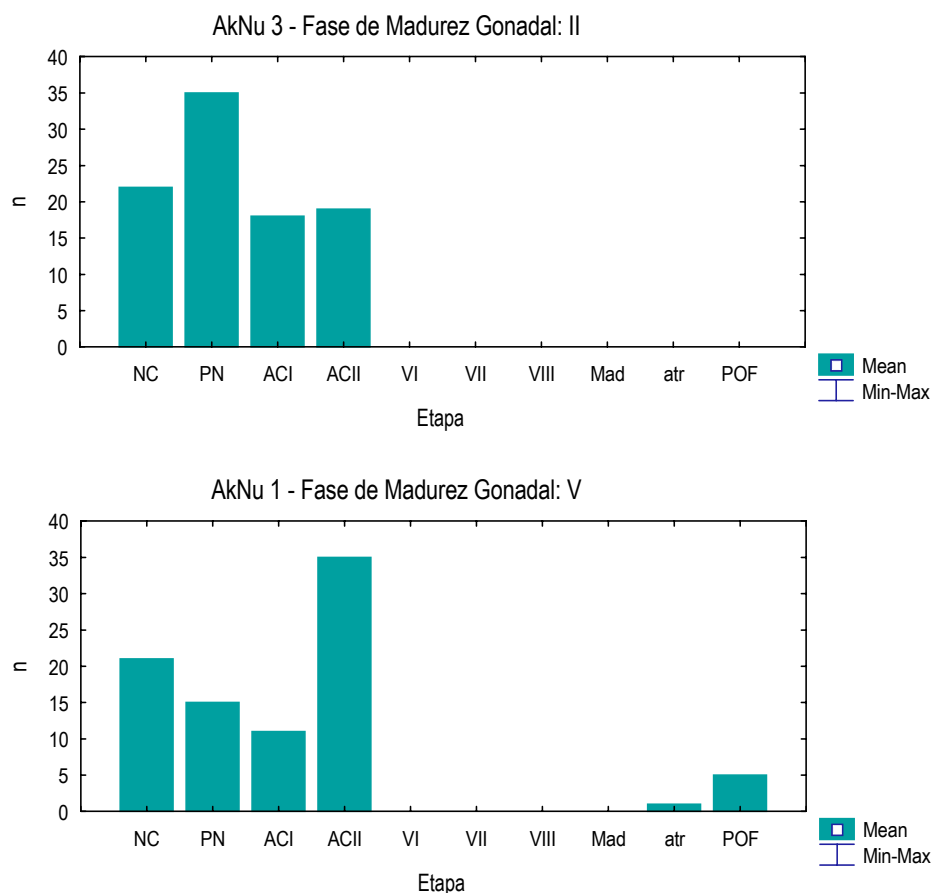
Como se observa en la Figura 41 el cociente nucleoplasmático decrece al avanzar el estadio de desarrollo de la célula.



**Figura 41:** Evolución del diámetro medio de los ovocitos (DM) y de la Relación Nucleoplasmática (NC).

### 3.1.3 Madurez gonadal

Al ejemplar AkNu 3 se le asignó la etapa de madurez II (Inmaduro en desarrollo) y al ejemplar AkNu 1 la etapa de madurez V (post-puesta). En la Figura 42 se muestran las distribuciones de frecuencias promedio de los ovocitos en los distintos estadios de desarrollo, en las cuales se basaron tales asignaciones. En el Apéndice III (Figura A4) se detallan las distribuciones de frecuencias por individuo.



**Figura 42:** Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.



## 3.2 *Bathyraco macrolepis*

### 3.2.1 Anatomía de los ovarios

Los ovarios de esta especie son de tipo cistovárico (Connaughton y Katsumi, 1998), y los pliegues ováricos llenan el ovocele en los estadios avanzados de madurez. Hay dos ovarios y, en general, el izquierdo es de menor tamaño que el derecho. Ambos ovarios están unidos en la parte posterior de donde nace el oviducto. En estadios de madurez temprana la sección de los ovarios tiene forma irregular y a medida que avanza en su desarrollo, adquiere forma más o menos triangular. En el caso de los ovarios maduros ocupan toda la cavidad abdominal, hasta la cavidad pericárdica.

### 3.2.2 Caracterización de la ovogénesis

#### **Fase de Crecimiento Primario**

Oogonias: las oogonias son células redondeadas con un núcleo muy grande ocupando la mayor parte de la célula, el citoplasma se observa sin granulaciones, se distinguen escasos nucleolos en el centro del núcleo. Las células están dispuestas en grupos de 5 a 7 en los bordes internos de las laminillas ováricas.

Etapa Nucleocromatínica (NC): los ovocitos en esta etapa mantienen su forma esférica, el citoplasma no presenta granulaciones y es ligeramente basófilo. El núcleo, de posición

central, muestra una forma levemente ovalada y se observan en su interior varios nucleolos distribuidos al azar (Lámina 5A).

Etapa Perinuclear (PN): el citoplasma de los ovocitos en fase perinuclear tiene menor afinidad por la Hematoxilina, y es en general liso aunque en la zona cortical se muestra más rugoso. El núcleo es central y voluminoso y presenta entre 18 y 31 nucleolos altamente basófilos, de forma arriñonada, en la periferia. Se observan células aplanadas formando la capa de granulosa (Lámina 5A,B).

### **Fase de Crecimiento Secundario**

Etapa de Alvéolos Corticales I (ACI): el ovocito aumenta de tamaño y en su zona cortical media aparecen los primeros alvéolos corticales, que son de forma redonda y pequeños. La fina banda de citoplasma que rodea al núcleo muestra una apariencia más densa y es altamente basófilo, mientras que el resto tiene un aspecto liso y es menos basófilo. Los nucleolos semiesféricos se disponen en la periferia del núcleo, que mantiene su posición central. Por debajo de la capa de granulosa se comienzan a distinguir las estriaciones de la zona radiata, que presenta un espesor medio de 7,38  $\mu\text{m}$  (Lámina 5A,B).

Etapa de Alvéolos Corticales II (ACII): se aprecia un aumento en el volumen celular y en el número y tamaño de los alvéolos corticales. Los alvéolos de mayor tamaño se encuentran en el centro de la célula y hacia la periferia se ubican los más pequeños. En la zona cortical externa, por fuera de los alvéolos corticales, el citoplasma tiene un aspecto

altamente granuloso y levemente basófilo, mientras que en la zona perinuclear muestra una mayor basofilia y una apariencia más densa. En la periferia del núcleo se observan numerosos nucleolos (entre 21 y 32) de forma elongada, la membrana nuclear se muestra festoneada y el carioplasma liso (Lámina 5A,B). La zona radiata puede diferenciarse en una parte interna, con elevada afinidad por HE, y una zona externa (grosor medio 8,11  $\mu\text{m}$ ). Las células que conforman la granulosa son cúbicas con núcleos altamente basófilos.

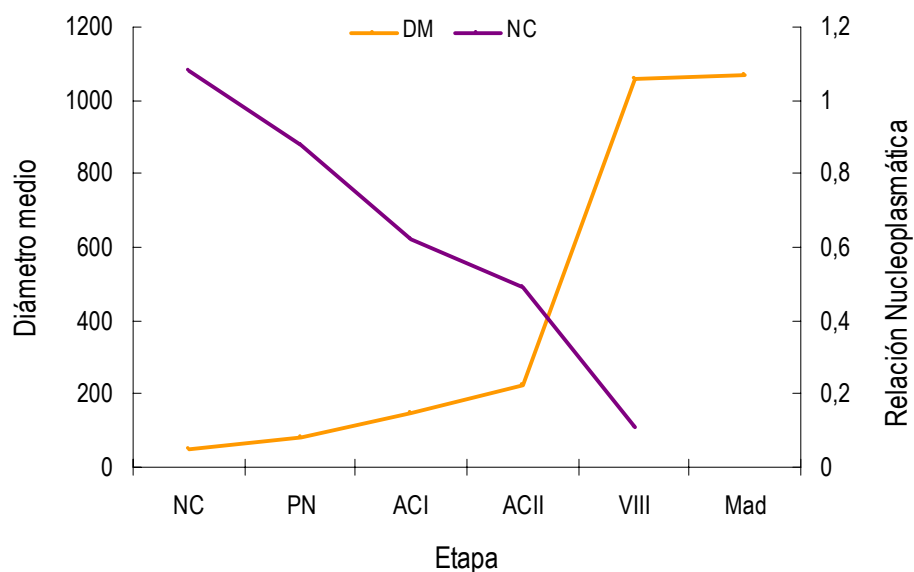
Etapa de Vitelo III (VIII): los ovocitos en esta etapa presentan un núcleo de forma irregular y desplazado del centro, con muchos nucleolos redondos en la periferia (de 18 a 31) y numerosas inclusiones altamente basófilas distribuidas al azar en el carioplasma. La mayoría de los gránulos de vitelo, altamente eosinófilos, se hallan fusionados centralmente (Lámina 5C). En la zona cortical externa se observan algunos alvéolos corticales muy pequeños. La zona radiata interna, más ancha (26,07  $\mu\text{m}$ ), presenta elevada afinidad por la eosina, mientras que la zona radiata externa, más delgada (5,12  $\mu\text{m}$ ), es más basófila y muestra estriaciones más evidentes. Las células de la granulosa forman una sola capa, de aspecto aplanado.

Etapa Madura (Mad): los gránulos de vitelo, eosinófilos, se hallan totalmente fusionados y el núcleo se ha desintegrado. La zona radiata se muestra igual que en la etapa anterior, pero se distinguen con mayor claridad las estriaciones (espesor medio 28,64  $\mu\text{m}$ ) (Lámina 5D).

Atrésicos (atr): las células de granulosa invaden el ovocito por las regiones fragmentadas de la zona radiata, la

coloración del conjunto difiere mucho de un ovocito normal. El interior de la célula tiene distinta afinidad y granulosidad variada.

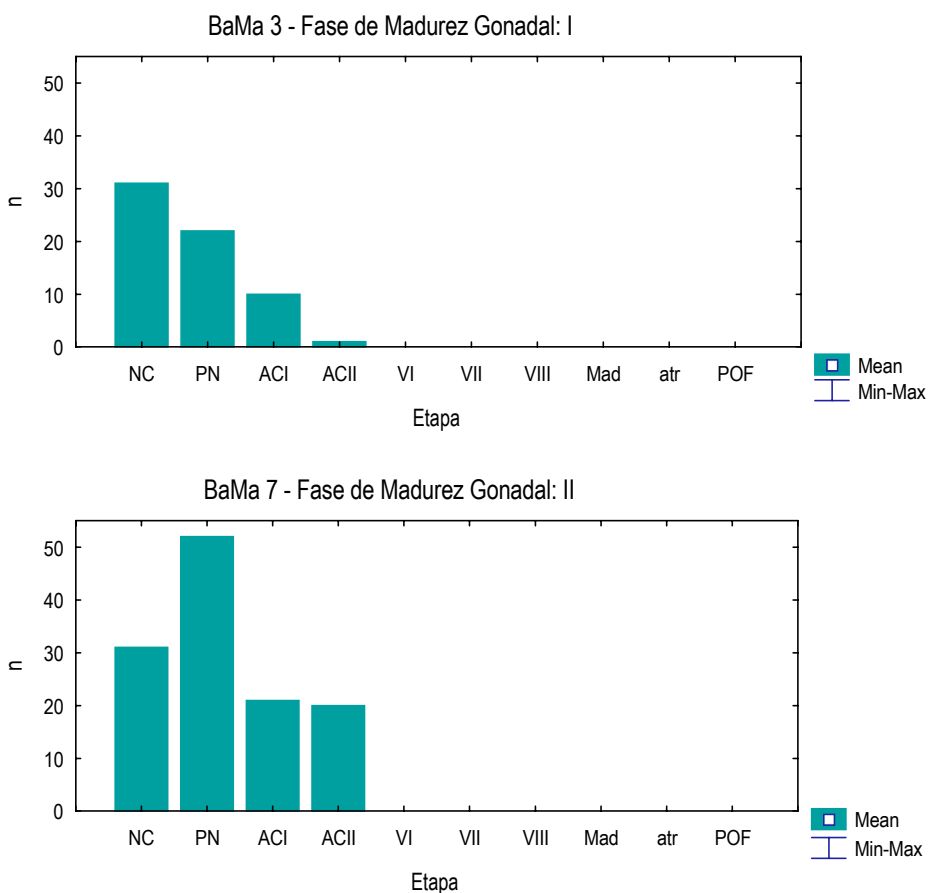
Como puede observarse en la Figura 43, el coeficiente nucleoplasmático disminuye a medida que aumenta el volumen celular, es decir, a medida que el ovocito adquiere mayor grado de madurez.



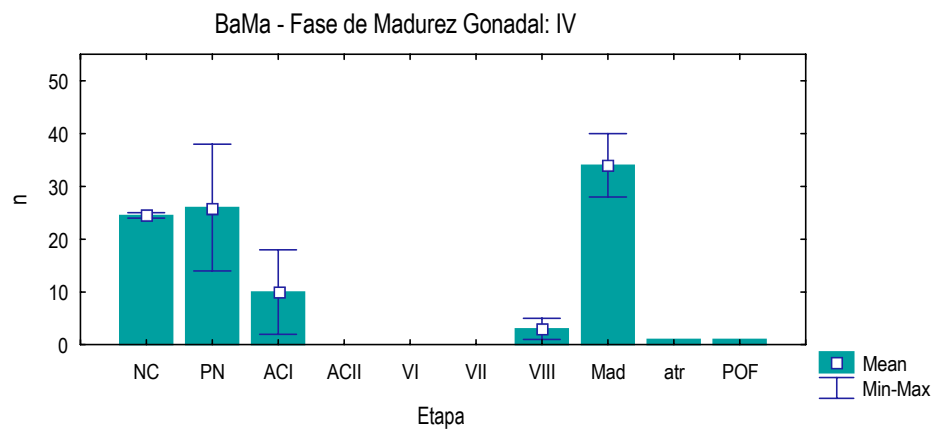
**Figura 43:** Evolución del diámetro medio de los ovocitos (DM) y de la Relación Nucleoplasmática (NC).

### 3.2.3 Madurez gonadal

En la Figura 44 se presentan las distribuciones de frecuencias promedio de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada una de las fases de madurez gonadal. Las distribuciones de frecuencia de los ovocitos en las distintas etapas, por individuo, se encuentran detalladas en el Apéndice III (Figura A5).



**Figura 44:** Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.



**Figura 44** (continuación): Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.

### 3.3 *Gerlachea australis*

#### 3.3.1 Anatomía de los ovarios

Los dos ovarios son de tipo cistovárico (Connaughton y Katsumi, 1998), y se ubican dorsalmente con relación al tubo digestivo. Tienen forma subcilíndrica (Lámina 6A) y se unen en su parte posterior. La pared está compuesta por una capa muscular longitudinal externamente y una capa muscular circular en la cara interna, intercalados en la pared se encuentran numerosos vasos sanguíneos.

#### 3.3.2 Caracterización de la ovogénesis

##### **Fase de Crecimiento Primario**

Oogonias: las oogonias son pequeñas células redondeadas, con un núcleo esférico y muy voluminoso, altamente picnótico. Se hallan ubicadas en los bordes de las laminillas ováricas en grupos de 5 a 9 células (Lámina 6F).

Etapa Nucleocromatínica (NC): los ovocitos en etapa nucleocromatínica tienen forma esférica, presentan un citoplasma más o menos liso, basófilo, con granulaciones en la periferia y un gran núcleo central con escasos nucleolos. La envoltura está constituida por una capa simple de células (Lámina 6B).

Etapa Perinuclear (PN): los ovocitos exhiben un citoplasma menos basófilo, con mayores granulaciones en la zona cortical (Lámina 6A,B,E). El núcleo, con un carioplasma

de aspecto granuloso, mantiene su posición central y los nucleolos, de color rojo intenso con Mallory, tienen forma de media luna y se encuentran en la periferia en números de 19 a 37. La granulosa está compuesta por una capa simple de células aplanadas, con núcleo voluminoso.

### **Fase de Crecimiento Secundario**

Etapa de Alvéolos Corticales I (ACI): aparecen pequeños alvéolos corticales, PAS+, que se ubican en la zona media de la célula. En esta etapa los ovocitos muestran un citoplasma con granulaciones en la periferia, por fuera de los alvéolos corticales y una zona muy densa, altamente basófila, rodeando al núcleo (Lámina 6A,B). El núcleo es grande y de posición central, con nucleolos redondos en su periferia. Comienza a esbozarse la zona radiata por debajo de la capa de la granulosa.

Etapa de Alvéolos Corticales II (ACII): se observan grandes alvéolos corticales llenando toda la célula, ubicándose los de mayor tamaño hacia el núcleo y los más pequeños hacia la periferia (Lámina 6A-C). El citoplasma de los ovocitos en esta etapa se muestra principalmente como una banda densa que rodea al núcleo y una delgada zona en la periferia, altamente granulada. El núcleo conserva su posición central y los nucleolos, en número de 7 a 13, se ubican adyacentes a la membrana nuclear. La zona radiata interna es más ancha que la zona radiata externa y ambas se diferencian claramente (espesor medio 6,05  $\mu\text{m}$ ). La granulosa está compuesta por células aplanadas, con un núcleo basófilo, ovoide (Lámina 6C).



Etapa de Vitelo I (VI): en la zona periférica de los ovocitos en esta etapa aparecen los primeros gránulos de vitelo, cuyo tamaño va aumentando a medida que se acercan al núcleo. Estos gránulos se hallan intercalados con los alvéolos corticales que todavía ocupan la mayor parte de la célula. El citoplasma, por afuera de los alvéolos corticales y en la zona donde aparecen los gránulos de vitelo, tiene un aspecto muy rugoso, mientras que en la zona perinuclear se presenta liso pero más denso y con mayor afinidad por HE. El núcleo es central y de gran tamaño, con un carioplasma débilmente basófilo más o menos liso, que presenta un anillo central de pequeñas inclusiones esféricas, altamente basófilas. Los nucleolos se ubican en la periferia. La zona radiata permanece sin cambios importantes (9,88  $\mu\text{m}$ ).

Etapa de Vitelo II (VII): los gránulos de vitelo, de mayores dimensiones que en VI ocupan la mayor parte de la célula ubicándose principalmente en la zona central, dejando a los escasos alvéolos corticales en la periferia. El núcleo sigue en su posición central con los nucleolos en su periferia. La zona radiata se tiñe fuertemente de rojo con Mallory y la granulosa forma una sola capa de células con un gran núcleo (Lámina 6A).

Etapa de Vitelo III (VIII): el núcleo se halla desplazado de su posición central y adquiere una forma estrellada, los nucleolos se ubican en la periferia y se distinguen en el carioplasma numerosas inclusiones basófilas, distribuidas uniformemente. Los gránulos de vitelo, altamente eosinófilos, son de mayor tamaño haciendo que el volumen celular

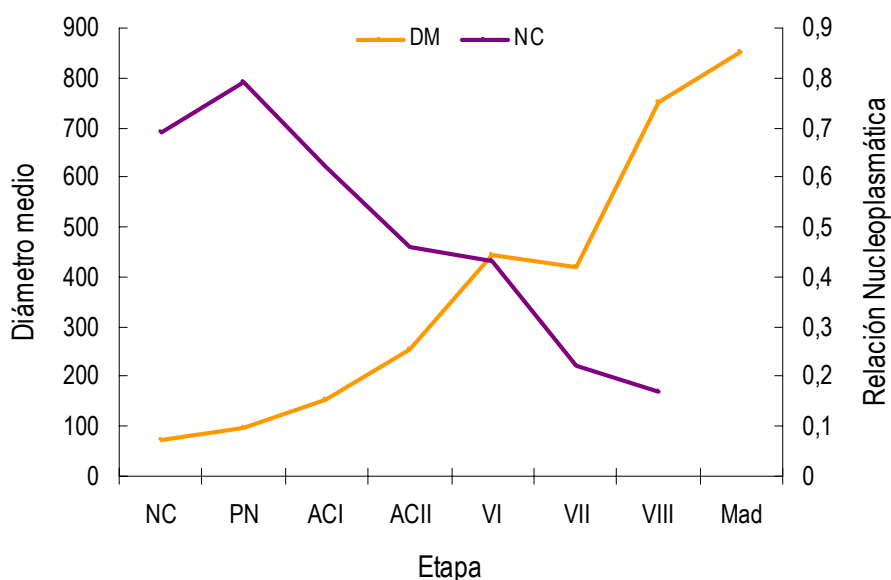
aumente. Éstos comienzan a fusionarse hacia el centro del ovocito y en la periferia todavía se distinguen pequeños alvéolos corticales (Lámina 6D). La zona radiata interna, de color rojo con Mallory, ha aumentado su grosor (9,11  $\mu\text{m}$ ), mientras que la zona radiata externa, de color azul claro con Mallory, es muy delgada (2,19  $\mu\text{m}$ ) y sus estriaciones son mayores. Las células de la granulosa adquieren forma más o menos cúbica con un gran núcleo central y conforman una capa simple que rodea al ovocito.

Etapa Madura (Mad): el volumen del ovocito sigue aumentando y los gránulos de vitelo se encuentran totalmente fusionados, formando placas o láminas y el núcleo se ha desintegrado. La zona radiata presenta la misma estructura que en VIII, pero se adelgaza (grosor medio 12,84  $\mu\text{m}$ ) y las células de la granulosa se presentan más aplanadas (Lámina 6C).

Atrésicos (atr): se observa la zona radiata fragmentada en varios puntos y las células de la granulosa presentan un aspecto irregular. En el interior se diferencian gránulos de vitelo y otra materia granulada no identificada (Lámina 6F).

Folículos post-ovulatorios (POF): se observa una estructura muy replegada, la capa de granulosa está formada por células más anchas de lo habitual y el interior del folículo presenta material granulado (Lámina 6E).

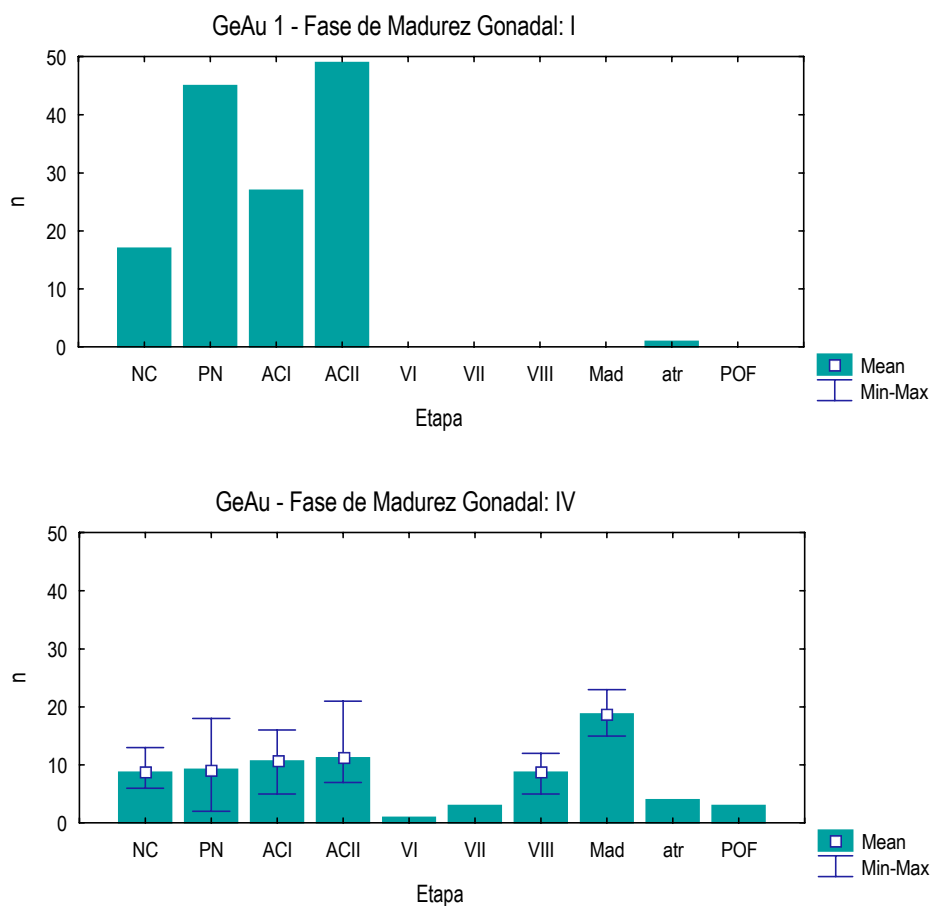
En la Figura 45 se muestran las variaciones de los valores del diámetro medio de los ovocitos en cada etapa de la ovogénesis y la relación nucleoplasmática obtenida también para cada etapa. Obsérvese que el aumento de tamaño más notable es a partir de la etapa de Vitelo III (VIII), cuando se produce el mayor acopio de vitelo por parte de la célula.



**Figura 45:** Evolución del diámetro medio de los ovocitos (DM) y de la Relación Nucleoplasmática (NC).

### 3.3.3 Madurez gonadal

En la Figura 46 se presentan las distribuciones de frecuencias promedio de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada una de las fases de madurez gonadal. Las distribuciones de frecuencia de los ovocitos en las distintas etapas, por individuo, se encuentran detalladas en el Apéndice III (Figura A6).



**Figura 46:** Frecuencias de los ovocitos en las distintas etapas de la ovogénesis, para cada fase de madurez gonadal.

### 3.3.4 Fecundidad

En la Tabla XII se muestran los valores de Fecundidad absoluta de los ejemplares de *Gerlachea australis* estudiados.

**Tabla XII:** Fecundidad absoluta (Fa) en *G. australis*.

<b>Ejemplar</b>	<b>LT (mm)</b>	<b>Madurez</b>	<b>Fa</b>
GeAu 5	232	IV	651,93
GeAu 6	239	IV	461,31
GeAu 7	228	IV	561,48
GeAu 8	236	IV	716,22