

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
Facultad de Ciencias Naturales
Sede Puerto Madryn

Seminario de Licenciatura

**Ciclo bioquímico del erizo verde
Arbacia dufresnii (Blainville, 1825),
en costas del Golfo Nuevo, Patagonia.**

Lucía Epherra

Directora: Dra. María Enriqueta Díaz de Vivar
Co-directora: Lic. Cynthia Tamara Rubilar Panasiuk
Profesora Asesora: Dra. Silvana Dans

2010

Agradecimientos

A mamá, sobre todas las cosas, gracias mami por haberme enseñado a ser quien soy, con mis fuerzas y con mis debilidades. Gracias por estar en todo momento, sin faltar a ninguno de ellos.

A mis hermanas, Laura (mi cable a tierra) y Luki (la fortaleza en pie), por apoyarme, bancarme, escucharme y enseñarme que es una familia, gracias. Principalmente por ser las mamás de los nenes me hacen ver día a día que todo esta bien: Zenón (el hombrecito), Juana (la princesa), Manu (futura hippie), Salva (vago a caballo), Lolo (mi ahijado) y (la nena esperada!!).

A mi abu, que todavía espero su visita a Madryn.

A papá, por estar a su manera, pero estar en fin.

A la familia que elijo día a día, en Aya, en MDQ y en Madryn...

Mis amigas de "el pueblo": Ade (gracias por tantas charlas), Naty (gracias por ser una de las personas que mas cree en mi) y Gaby, gracias por elegirme para ser parte de tu familia, con Cipri como ahijado y Uma en camino.

A los de MdQ: Agos (la artesana), Marina (molecularosa en España), Pablito (hermano estrellologo) y Nahuel (por el estoy con los equinodermos).

A los de Madryn: Carlita (por darme la primer charla), Gis (por dar paz) y Rus (por dar "locura") y Magda (por saltar con Manu Chao)

A Fede, por aguantarme, nos encontramos en la parte más nerviosa de la carrera. Gracias, por estar y por ayudarme a que sea todo más fácil.

A la gente de Master Divers que me ayudo con los muestreos, pero principalmente por ser tan linda gente... Oso, gracias por ver el lado sencillo; Mati (fotógrafo subaqua), mi hermano elegido, gracias por todo (hasta las peleas) y Juli, gracias por buscar tranquilidad. Y a todos lo que están/estuvieron en la Masterrible.

A Rosita, Miriam y Tito; ellos me ayudaron con los primeros pasos en Madryn.

A los que preguntaron "y...terminaste?", a ellos por interesarse y por compartir distintos momento.

A Tam y Enri, gracias por enseñarme a investigar, a leer, a tener constancia y paciencia; pero principalmente gracias por enseñarme valores en la ciencia.

A la Catalina Pastor, por permitirme trabajar en su laboratorio. A Marina Kroeck y Enrique Morsan, por hospedarme en su casa, por enseñarme distintas técnicas y gracias por dejarme escucharlos. A Silvana Dans, por ser mi asesora y ayudarme a poder empezar el Ciclo Superior en el momento pensado. Florencia Cremonte, Graciela Casas y distintos investigadores del CENPAT por permitirme utilizar distintos instrumentos para llevar a cabo el Seminario.

Introducción	1
Objetivo	4
Materiales y Métodos	5
1~ Recolección y procesamiento de individuos	5
2~ Análisis histológico	6
3~ Análisis bioquímico	7
4~ Análisis estadísticos	9
Resultados	10
1~ Proporción de sexos	10
2~ Datos morfométricos	10
3~ Índices	12
4~ Histología	14
5~ Ciclo bioquímico	20
5-1~ Hidratos de Carbono.....	20
5-2~ Lípidos	22
5-3~ Proteínas	24
5.4~ Transferencia de nutrientes	27
5-5~ Energía	27
Discusión.....	29
Conclusión	37
Bibliografía	38

INTRODUCCIÓN

Los equinodermos son un *phylum* exclusivamente marino. Se distribuyen en todos los océanos desde la zona intermareal hasta las zonas abisales. En este medio, los equinodermos ocupan todos los ambientes, y constituyen con frecuencia una gran proporción de la biomasa. El carácter más exclusivo de los equinodermos es la presencia del sistema vascular acuífero o sistema ambulacral, que se utiliza para la alimentación, locomoción e intercambio gaseoso. Además, se caracterizan por su simetría pentarradial, por carecer de capacidad para la osmorregulación, por poseer un endoesqueleto espinoso de placas calcáreas, pedicelarios y branquias dérmicas, y por ser capaces de regenerar sus órganos (Ruppert y Barnes, 1996).

Se conocen alrededor de seis mil especies pertenecientes a Echinodermata, que es el único gran grupo de invertebrados deuterostomados. Los equinodermos actuales se agrupan en seis clases: Crinoidea (lirios de mar), Ophiuroidea (serpientes de mar), Asteroidea (estrellas de mar), Echinoidea (erizos de mar, galletas de mar, dólares de arena), Holothuroidea (pepinos de mar) y Concentricycloidea (margarita de mar) (Ruppert y Barnes, 1996).

La clase Echinoidea está representada por aproximadamente unas novecientas especies actuales, encontrándose presentes en todos los mares, a menudo en grandes densidades de individuos (Hendler *et al.*, 1995). La clasificación de los equinoideos separa la clase en subgrupos principales: Regularia (erizos de mar propiamente dichos) e Irregularia (dólares de arena y erizos acorazonados).

Los erizos de mar se reproducen sexualmente, siendo típicamente dioicos con fecundación externa. Los individuos hermafroditas son raros, la frecuencia de ocurrencia generalmente es menor a uno o dos por cada mil (Pearse y Cameron, 1991).

La reproducción sexual está típicamente caracterizada por un patrón estacional de desarrollo gamético seguido por un desove sincronizado (Chia y Walker, 1991). El ciclo reproductivo puede ser estudiado mediante el cálculo del índice gonadal, y corroborado a través de un análisis histológico que permita establecer los distintos estadios de la gametogénesis. El índice de un órgano es un estimativo del peso relativo que ocupa en el cuerpo del organismo (Giese y Pearse, 1975). El índice gonadal entonces, permite inferir el estadio gonadal en el que se encuentra un individuo en un momento dado. Si este valor es muy alto, probablemente se deba a que la gónada se encuentra llena de gametas, en cambio si el valor es muy pequeño puede deberse a que el individuo desovó sus gametas o se encuentra en estadio de reabsorción. Este índice, seguido a lo largo de un ciclo reproductivo da, entonces una estimación del ciclo gonadal de un individuo. De la misma forma, el índice intestinal da información sobre el almacenamiento de nutrientes en este órgano. En los equinoideos, el epitelio

germinal de las gónadas está caracterizado por dos ciclos distintos e inversamente relacionados, el ciclo agamético (fase fagocítica nutritiva) y el ciclo gamético (fase gametogénica) (Byrne, 1990). En los erizos de mar los oocitos terminan la segunda división meiótica y se desarrollan en óvulos dentro de los ovarios, por lo cual incluso dentro de la gónada madura se puede hablar de óvulos (Pearse y Cameron, 1991). Los ritmos gametogénicos de la mayoría de las especies de equinoideos de aguas poco profundas son por lo general anuales, existiendo uno o más períodos de liberación de gametas (McClary y Barker, 1998).

Un estudio aún más completo del ciclo reproductivo analiza la cantidad y producción de biomasa a lo largo del ciclo, indicando los requerimientos nutricionales y energéticos de los individuos. La cantidad de producción es generalmente medida como un cambio en la masa, pero las medidas en términos de energía son una información más útil, particularmente cuando se basan en el análisis de la composición bioquímica (Lawrence *et al.*, 1999).

El análisis de la composición bioquímica de un organismo es importante para entender su fisiología y la significación funcional del almacenamiento de materia y energía en los distintos componentes del cuerpo (Giese, 1966). También es interesante conocer la composición bioquímica de los diferentes órganos, ya que da información sobre la naturaleza y rol de los tejidos y células que los componen. Esta información bioquímica puede utilizarse para estimar la contribución de cada órgano y cada nutriente durante el ciclo reproductivo (Giese, 1966; Lawrence y Lane, 1982). La composición bioquímica de los órganos de los erizos ha sido estudiada en varias especies: *Strongylocentrotus purpuratus*, *Strongylocentrotus franciscanus*, *Alloccentrotus fragilis* y *Stomopneustes variolaris* (Giese, 1966); *Ctenocidaris perrieri*, *Abatus shackletoni* y *Abatus nimrodi* (McClintock y Pearse, 1987); *Clypeaster prostratus*, *Clypeaster ravenelii*, *Genocidaris maculata* y *Stylocidaris affinis* (McClintock *et al.*, 1990), *Lytechinus variegates* (Bishop y Watts, 1992), *Paracentrotus lividus* (Fernández, 1998; Montero-Torreiro y García Martínez, 2003), *Sterechinus neumayeri* (Brockington *et al.*, 2001), *Pseudocentrotus depressus* (Unuma *et al.*, 2003); *Echinometra lucunter* y *Arbacia lixula* (Tavares *et al.*, 2004), *Amphipneustes lorioli* (Galley *et al.*, 2005) y *Psammechinus miliaris* (Hughes *et al.*, 2006).

Los lípidos son la reserva de nutrientes más importante en equinodermos en general (Giese, 1966). Los carbohidratos también son una fuente de reserva en los órganos de los erizos, aunque sus niveles suelen ser bajos (Giese, 1966; Lawrence y Guille, 1982; McClintock y Pearse, 1987; Fernández, 1998). Estos últimos, como primera fuente de energía, son los primeros en desaparecer en situaciones de baja disponibilidad de alimento. Durante la formación de gametas, los nutrientes que se incorporan por vía dietaria son utilizados para el crecimiento somático, el metabolismo basal y el crecimiento gonadal (Miller y Lawrence, 1999) y normalmente se utiliza además la energía acumulada en los órganos de

almacenamiento de nutrientes particulares de cada organismo. El estudio del ciclo bioquímico implica evaluar los cambios en la cantidad de los principales componentes bioquímicos (lípidos, carbohidratos y proteínas) a lo largo del ciclo reproductivo, tanto en las gónadas como en el órgano de almacenamiento. La variación de las cantidades de estos componentes suele ser periódica y se relaciona con el estadio reproductivo del organismo (Giese, 1966). Mediante este estudio frecuentemente se explica la relación entre los órganos reproductivos y los órganos de almacenamiento (Booolootian, 1966; Oudejans y Van der Sluis, 1979; Barker y Xu, 1991; Lawrence y Ellwood, 1991; Lares y Lawrence, 1994; Alves *et al.*, 2002; Rubilar *et al.*, 2005; Pastor de Ward *et al.*, 2006) y puede además ser un indicador de la condición nutricional de la población (Watts y Lawrence, 1982; Hammer *et al.*, 2004; Pastor de Ward *et al.*, 2006). El órgano de almacenamiento varía de acuerdo a la Clase: Asteroidea: ciego pilórico; Ophiuroidea: tubo digestivo, Holothuroidea: tubo digestivo, Crinoidea: tubo digestivo. En la clase Echinoidea, esta función, en principio, es cumplida por el tubo digestivo (*gut*). De acuerdo con Giese, 1966, éste comprende: esófago, estómago, intestino y recto.

Los equinoideos de la costa patagónica argentina han sido objeto de estudios científicos en los últimos años (Penchaszadeh y Lawrence, 1999; Bigatti *et al.*, 2004; Penchaszadeh *et al.*, 2004; Brogger, 2005; Marzinelli *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2009). El erizo de mar *Arbacia dufresnii* es un equinoideo abundante en el Mar Argentino y en el Chileno: se distribuye desde la desembocadura del Río de la Plata (35° S) hasta Puerto Montt (42° S), incluyendo la Antártida e islas Malvinas (Bernasconi, 1966). En las costas chilenas, se han realizado estudios sobre dieta del erizo en bancos de algas (Vásquez *et al.*, 1984) y su distribución (Larrain *et al.*, 1999). En las costas argentinas, existen estudios sobre aspectos generales de la dieta (Penchaszadeh y Lawrence, 1999), ciclo reproductivo en aguas del Golfo Nuevo (Brogger, 2005) y su relación con el alga *Undaria pinnatifida* (Teso *et al.*, 2009).

Este Seminario propone estudiar el ciclo bioquímico de una población de *A. dufresnii* durante un ciclo anual y analizar su relación con el ciclo reproductivo. Este estudio forma parte del Proyecto “*Arbacia dufresnii* (Blainville, 1825) (Echinodermata, Echinoidea): Dieta, estado nutricional y ciclo reproductivo en dos poblaciones de la Patagonia central” (F.C.N., U.N.P.S.J.B. P.I. N° 002/08).

OBJETIVO

Objetivo general

Estudiar el ciclo bioquímico a lo largo del año, del erizo de mar *Arbacia dufresnii* en las costas de Golfo Nuevo, Provincia de Chubut, Argentina.

Objetivos particulares

1. Analizar la relación largo-peso para la población en estudio.
2. Determinar la composición bioquímica del intestino y las gónadas durante el año de estudio.
3. Estudiar la relación entre el ciclo bioquímico y reproductivo en la población en estudio, del erizo de mar *Arbacia dufresnii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

1~ Recolección y procesamiento de individuos

Entre enero y diciembre de 2008, se recolectaron cada mes, treinta individuos sexualmente maduros (Bernasconi, 1953) de *Arbacia dufresnii* en Punta Cuevas ($42^{\circ}46'37''$ S, $64^{\circ}54'51''$ O), en costa sur de Puerto Madryn, en el Golfo Nuevo, Provincia del Chubut (Figura 1). La topografía del área de muestreo está compuesta por suelo de tobas calcáreas con pequeñas zonas con sustrato no consolidado no mayores al metro de diámetro. Los individuos suelen encontrarse tanto en las áreas con sustrato duro como en la arena, o bien sostenidos a los estolones o sobre las hojas del alga exótica *Undaria pinnatifida*.

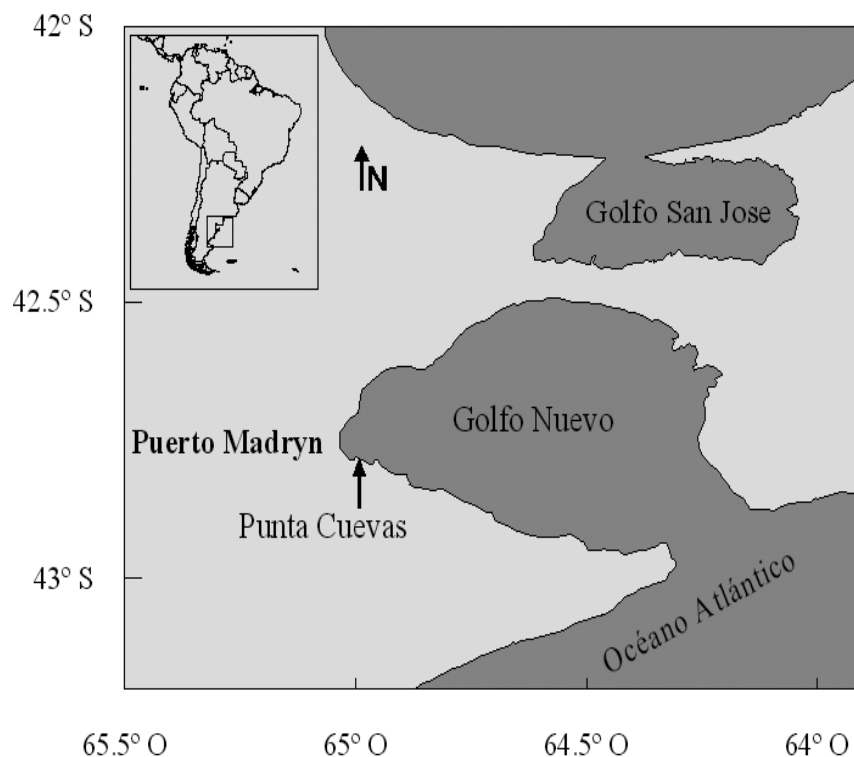


Figura 1. *Arbacia dufresnii*. Sitio de muestreo.

Los individuos recolectados fueron inmediatamente transportados al laboratorio y se dejaron veinticuatro horas en acuarios para evitar el desove espontáneo.

Al momento de ser procesados, los individuos fueron anestesiados con $MgCl_2$ 5% y pesados utilizando una balanza gávimétrica (0,001 g). Se obtuvo el diámetro de la testa usando un calibre de precisión (0,001cm). Los individuos se diseccionaron, se extrajo el intestino y las gónadas, que se

pesaron con la misma balanza. En este trabajo, se considera “intestino” a la unidad que comprende: esófago, estómago, intestino y recto (Giese, 1966) (Figura 2). El sexo de los individuos se determinó mediante la coloración de las gónadas en fresco; los ovarios poseen una coloración rojo-púrpura, mientras que los testículos son de color crema-blanquecino (Brogger, 2005). Se separó una porción de gónada de cada individuo para la determinación histológica del estadio gonadal y se fijó en solución de Davidson (formol: 20%; agua de mar filtrada: 30%, glicerina: 10%; ácido acético glacial: 10% y alcohol: 30%; todos, V/V). A los fines de los estudios bioquímicos, las gónadas restantes y el intestino se secaron en estufa a 60°C hasta peso constante y luego se pulverizaron en mortero de porcelana.

El diámetro de la testa y el peso se utilizaron para el análisis de la relación largo-peso de los individuos a lo largo del año de estudio.

Los índices de intestino y de gónada se calcularon según Giese (1966), utilizando la fórmula 1.

$$IO = \left(\frac{PHO}{PHI} \right) \times 100 \quad (1)$$

PHO= Peso Húmedo de Órgano

PHI= Peso Húmedo de Individuo

IO= Índice de Órgano

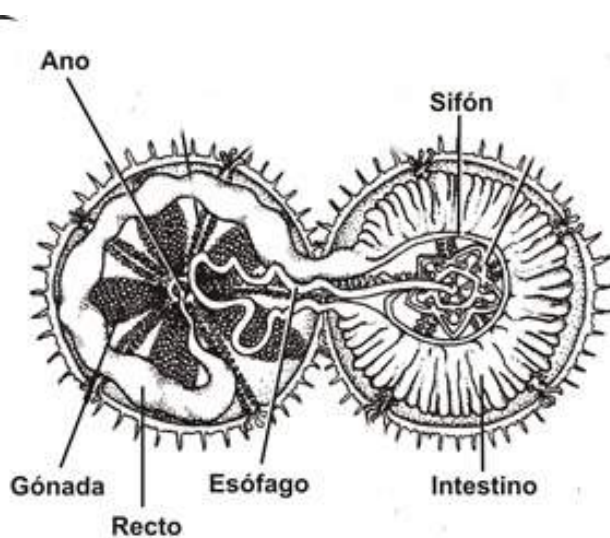


Figura 2. Anatomía interna de un equinoideo regular

2~ Análisis histológico

Para análisis histológicos, las gónadas fijadas en solución de Davidson se deshidrataron en una serie de alcoholes (70°, 96°, 100°), luego se transparentaron los tejidos en xileno y, finalmente fueron

embebidos e incluidos en parafina. Los tejidos embebidos en parafina fueron seccionados cada 7 μm con micrótopo rotacional Leica y se tiñeron siguiendo la técnica de tinción con hematoxilina y eosina (Wilson y Gamble, 2002).

La determinación de los distintos estadios gametogénicos se realizó en base a cambios en la morfología de las gónadas de acuerdo a Byrne (1990). Los preparados se observaron en un microscopio óptico Zeiss. Las fotografías se obtuvieron utilizando una cámara Leica DFC 280.

3~ Análisis bioquímico

Debido al pequeño tamaño de los individuos, con cada muestra mensual se integró una única muestra homogénea, seca, de las gónadas o de los intestinos de todos los individuos del mismo sexo a fin de tener material suficiente para realizar los análisis. De este modo, los análisis se efectuaron sobre una muestra mensual por órgano y por sexo para determinar lípidos, proteínas, carbohidratos y contenido de agua. Cada muestra así integrada se procesó por triplicado al realizar el respectivo análisis bioquímico.

Los componentes bioquímicos se determinaron por métodos colorimétricos: los carbohidratos, siguiendo el método de Dubois *et al.* (1956), con glucógeno como estándar; las proteínas solubles, por el método de Lowry *et al.* (1951), usando albúmina de suero bovino como estándar y los lípidos, por el método de Zollner y Kirsch (1962); utilizando colesterol como estándar.

Los resultados de los análisis bioquímicos se expresaron de la siguiente forma:

a- *Niveles*: son una medida de la concentración (en porcentaje masa / masa, sobre base seca) de cada componente en un determinado órgano.

b- *Contenidos*: son cantidades absolutas de masa de cada componente en un determinado órgano. Se calcularon utilizando la fórmula **2**.

$$C = N * PS * IO * P.I.P. \cdot 10^{-3} \quad (2)$$

C= contenido ($\text{mg} \cdot \text{individuo}^{-1}$).

N = nivel: gramos de componente en 100 gramos de órgano, sobre base seca (g%).

PS = peso seco: gramos de órgano seco en 100 gramos de órgano húmedo

IO = índice del órgano: gramos de órgano húmedo en 100 gramos de individuo húmedo.

P.I.P. = peso húmedo del individuo promedio ($\text{g} \cdot \text{individuo}^{-1}$).

El factor 10^{-3} surge de $[1 / (100 \cdot 100 \cdot 100)] \cdot 10^3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$

El peso de un animal promedio (anual) se obtuvo mediante la regresión lineal del logaritmo natural del peso húmedo del individuo completo en función del logaritmo natural del diámetro de la testa (Barnes *et al.*, 1963; Ansell and Trerallion, 1967; Lawrence, 1973; De Vido de Mattio, 1980).

Para analizar la relación entre el ciclo bioquímico y el ciclo reproductivo, los resultados de los contenidos de cada componente bioquímico se relacionaron con los datos obtenidos para los índices gonadales y los análisis histológicos.

c- *Transferencia de nutrientes*: se analizó la correlación entre los contenidos de los componentes bioquímicos a lo largo del ciclo, para gónadas e intestino. Cuando se observó tráfico de nutrientes, se calcularon los valores de masa transferidos entre el órgano de almacenamiento y las gónadas, para cada componente.

d- *Energía*: para calcular los equivalentes de energía, se multiplicaron los contenidos (en gramos) por los coeficientes de conversión de Brody (1945): 39,558 kJ.g⁻¹ (lípidos), 23,651 kJ.g⁻¹ (proteínas) y 17,163 kJ.g⁻¹ (carbohidratos). Estos coeficientes son usualmente utilizados para la estimación de la energía acumulada a partir de los datos obtenidos de los análisis de composición bioquímica en equinodermos (Sibuet y Lawrence, 1981; McClintock *et al.*, 1990; Lares y Lawrence, 1994; Fernández, 1998; Miller y Lawrence, 1999; Raymond *et al.*, 2004; Pastor de Ward *et al.*, 2006). Estas estimaciones expresan los valores de energía disponibles en los órganos para llevar a cabo las distintas funciones fisiológicas.

d.1- La *producción de biomasa* se calculó en términos de energía con la fórmula **3**, siguiendo a Miller y Lawrence (1999) para cada sexo y órgano, teniendo en cuenta los estadios reproductivos definidos a partir del análisis histológico de las gónadas

d.2- El *esfuerzo reproductivo* se evaluó (en las gónadas) con la fórmula **4** para cada sexo (Raymond *et al.*, 2004). Los estadios de maduración y desove se definieron a partir del análisis histológico de las gónadas.

$$P.B. = \sum_{comp.} (\Delta E) \quad \text{donde} \quad \Delta E = E_{mad} - E_{crec} \quad (3)$$

$$E.R. = \sum_{comp.} (\Delta E) \quad \text{donde} \quad \Delta E = E_{mad} - E_{des} \quad (4)$$

$\sum_{comp.}$ = suma de los deltas para los tres componentes bioquímicos

P.B = producción de biomasa (kJ).

E.R.= esfuerzo reproductivo (kJ).

E_{mad} = energía disponible en cada órgano, en el estadio de maduración (kJ).

E_{crec} = energía disponible en cada órgano en el estadio de crecimiento (kJ).

E_{des} = energía disponible en las gónadas en el estadio de desove (kJ).

4~ Análisis estadísticos

La prueba de bondad de ajuste de Chi-cuadrado se utilizó para estudiar si la proporción de sexos difería de una relación 1:1 en la población estudiada. Las comparaciones morfométricas entre sexo se analizaron utilizando el test *t* de Student, probando los supuestos de normalidad y homocedacia mediante los test de Shapiro Wilks y de Barlett, respectivamente. En caso no cumplir con los supuestos, se utilizó el test no paramétrico de Mann-Whitney.

Las diferencias a lo largo del año, tanto de los valores de los índices como de los componentes bioquímicos, se analizaron mediante el test de ANOVA de una vía, sólo cuando se cumplieron los supuestos de normalidad y homocedacia o cuando los datos pudieron ser transformados adecuadamente; y las comparaciones se realizaron mediante el test de Tuckey. Cuando los supuestos no se cumplieron, se usó el test de Kruskal-Wallis para estudiar dichas diferencias.

Con el objetivo de analizar las relaciones entre los índices gonadales y de intestino se utilizó el test de correlación de Spearman. Este estadístico también se realizó para estudiar las relaciones entre la composición bioquímica de estos órganos durante la gametogénesis.

Para analizar las diferencias entre los índices gonadal e intestinal de machos y hembras y entre la composición bioquímica de ambos sexos se utilizó el test *t* de Student. Antes de analizar los datos se pusieron a prueba los supuestos de normalidad y homocedacia mediante los tests de Shapiro Wilks y de Barlett, respectivamente. Cuando los datos no cumplieron dichos supuestos, para observar las diferencias se utilizó el test no paramétrico de Mann-Whitney (Zar, 1984)

RESULTADOS

1~ Proporción de sexos

Durante el período de estudio, la proporción de sexos en la población de Punta Cuevas difirió significativamente de una relación 1:1 (Prueba de bondad de ajuste, $\chi^2=5,31$, $p<0,05$). En total se examinaron 188 hembras y 147 machos (proporción hembra:macho; 1,29:1) (Figura 3).

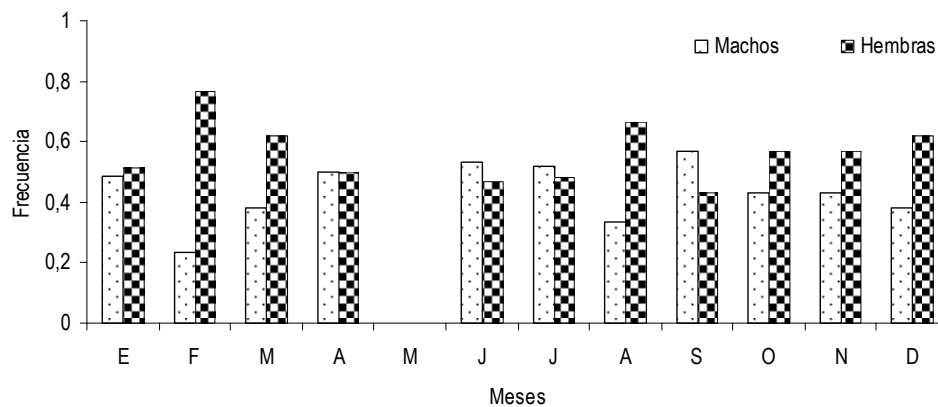


Figura 3. *Arbacia dufresnii*. Proporción de sexos.

2~ Datos morfométricos

El peso húmedo de los animales varió entre 1,44 g y 36,48 g con una media de 8,13 g, mientras que el diámetro osciló entre 1,07 cm y 4,84 cm, y la media fue de 2,59 cm.

El diámetro promedio de los individuos machos (2,51 cm) difirió significativamente del diámetro promedio de las hembras (2,67 cm) (t de Student, $t=2,76$, $p<0,05$) (Figura 4). El peso también difirió entre los sexos, el peso promedio de las hembras fue de 8,67 g y de los machos, 7,44 g (Mann-Whitney, $W=22238,50$, $p<0,05$).

Debido a la diferencia existente entre las tallas de los sexos, se calculó un individuo promedio macho (6,94 g) y un individuo promedio hembra (7,95 g) (Figuras 5 y 6).

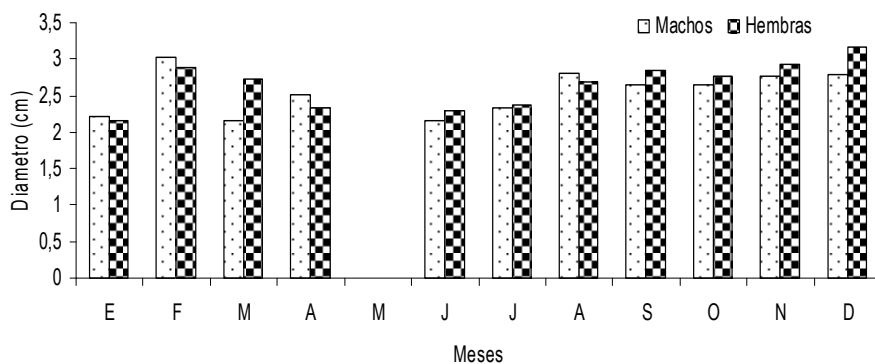


Figura 4. *Arbacia dufresnii*. Diámetro de la testa.

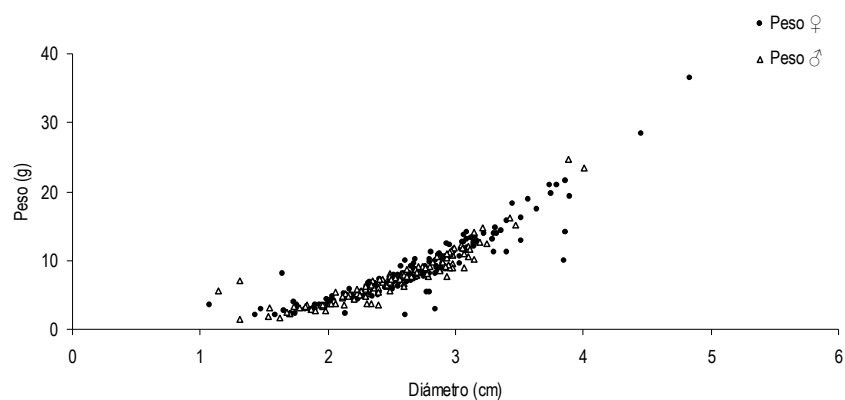


Figura 5. *Arbacia dufresnii*. Distribución de peso y largo.

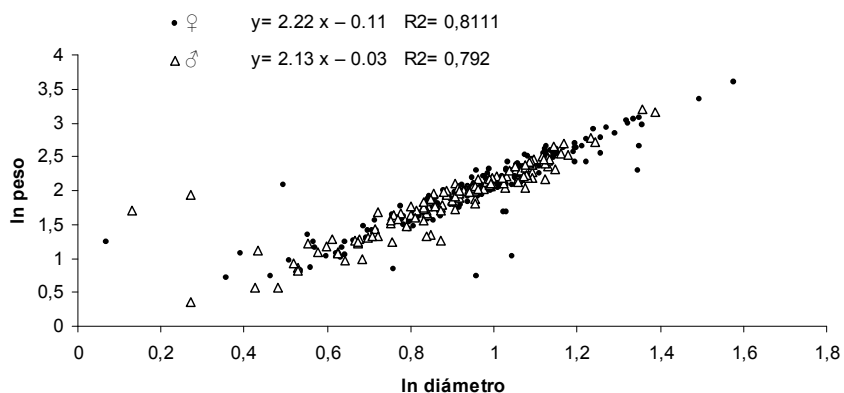


Figura 6. *Arbacia dufresnii*. Distribución del ln del peso y largo.

3~ Índices

Debido a que el índice de intestino (II) no difirió significativamente entre los sexos (Mann-Whitney, $W=24417$, $p>0,05$), se utilizaron los valores sin distinguir entre los índices de machos y hembras. Estos valores variaron significativamente a lo largo del año, presentando un valor mínimo en enero seguido de un incremento continuo hasta llegar a su valor máximo en julio; a partir de ese mes, volvieron a caer hasta octubre (Kruskal-Wallis, $H=241,58$, $p<0,05$) (Figura 7).

El índice gonadal (IG) difirió significativamente entre los sexos (t de Student; $t=5,02$; $p<0,05$). Los valores del índice gonadal de las hembras variaron mensualmente (Kruskal-Wallis, $H=115$, $p<0,05$); se observaron diferencias significativas entre los valores previos y posteriores a la liberación de gametas. Los valores del índice gonadal mostraron dos máximos que no difirieron significativamente entre sí en enero y septiembre; y valores mínimos en febrero y octubre que tampoco mostraron diferencias significativas (Figura 8).

Respecto a los machos, los valores del índice gonadal también variaron mensualmente (Kruskal-Wallis, $H=76,97$, $p<0,05$), mostrando dos eventos de liberación de gametas: uno en primavera y otro menor en verano. El máximo se alcanzó en septiembre y los valores mínimos en octubre y febrero (Figura 8).

Los índices gonadales e intestinales no correlacionaron significativamente en ambos sexos (hembras: Spearman, $r_s=0,47$, $p>0,05$; machos: Spearman, $r_s=0,60$, $p>0,05$). En las hembras el índice intestinal fue mayor que el índice gonadal (t de Student, $t=2,45$, $p<0,05$); mientras que en los machos los índices no difirieron entre sí (Mann-Whitney, $W=21471$, $p>0,05$).

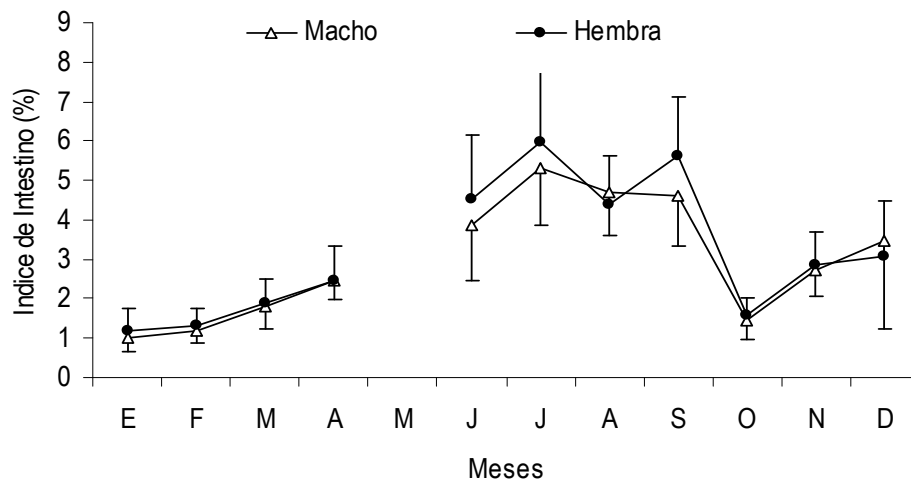


Figura 7. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del índice intestinal en machos (\bar{x} -DE) y hembras (\bar{x} + DE).

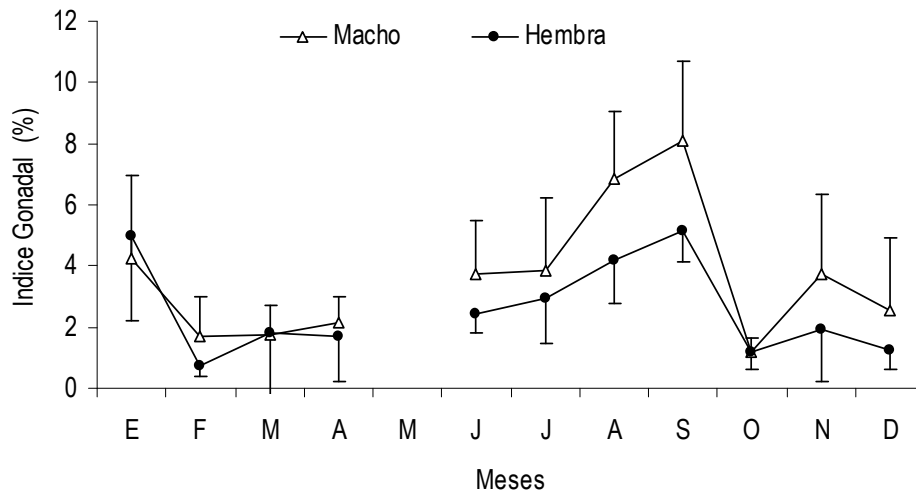


Figura 8. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del índice gonadal en machos (\bar{x} -DE) y hembras (\bar{x} + DE).

4~ Histología

Se analizaron cortes histológicos de 212 individuos: 119 hembras, 92 machos y 1 hermafrodita.

4.1~ Hembras

La oogénesis se dividió en seis estadios diferentes (Figura 9).

*** Fase de Crecimiento**

Esta fase se caracteriza por la proliferación celular. Las oogonias y oocitos primarios se encuentran adheridos a la pared acinal. También se pueden observar oocitos secundarios cercanos a la pared o en el lumen del acino. Es posible ver fagocitos nutritivos ubicados únicamente en la periferia. El tejido conectivo es delgado y poco visible (Figura 9a y b).

*** Fase de Pre-madurez**

Esta fase se caracteriza por la presencia de óvulos en el lumen. La proliferación sigue siendo importante, se observan oocitos en todos los estadios de desarrollo: oocitos primarios, secundarios y óvulos. Los fagocitos nutritivos siguen observándose en la periferia. El tejido conectivo se observa delgado y poco visible (Figura 9c).

*** Fase de Madurez**

Esta fase se caracteriza por la presencia de ovarios repletos de óvulos hexagonales empaquetados en el lumen, algunos con oocitos primarios adheridos a la pared acinal. Los fagocitos nutritivos forman una pequeña capa en la periferia. El tejido conectivo es delgado y poco visible (Figura 9d).

*** Fase de Desove Parcial**

Esta fase se caracteriza por la disminución de óvulos en el lumen y la presencia de oocitos en distintos estadios de desarrollo. Los fagocitos nutritivos se encuentran en la periferia. El tejido conectivo es laxo y más grueso (Figura 9e).

*** Fase de Desove**

Esta fase se caracteriza por poseer el lumen acinal vacío y una capa delgada de oogonias en la pared del acino. Los fagocitos nutritivos se encuentran en la periferia. El tejido conectivo es laxo y grueso (Figura 9f).

*** Fase de Reabsorción**

Esta fase se caracteriza por la presencia de ovarios heterogéneos. Algunos presentan oocitos primarios sobre la pared del acino y óvulos residuales (Figura 9g), otros contienen abundantes fagocitos nutritivos con pocos óvulos residuales, generalmente en lisis (Figura 9h); mientras que en otros acinos, los fagocitos nutritivos ocupan todo el lumen (Figura 9i). El tejido conectivo es visible y grueso.

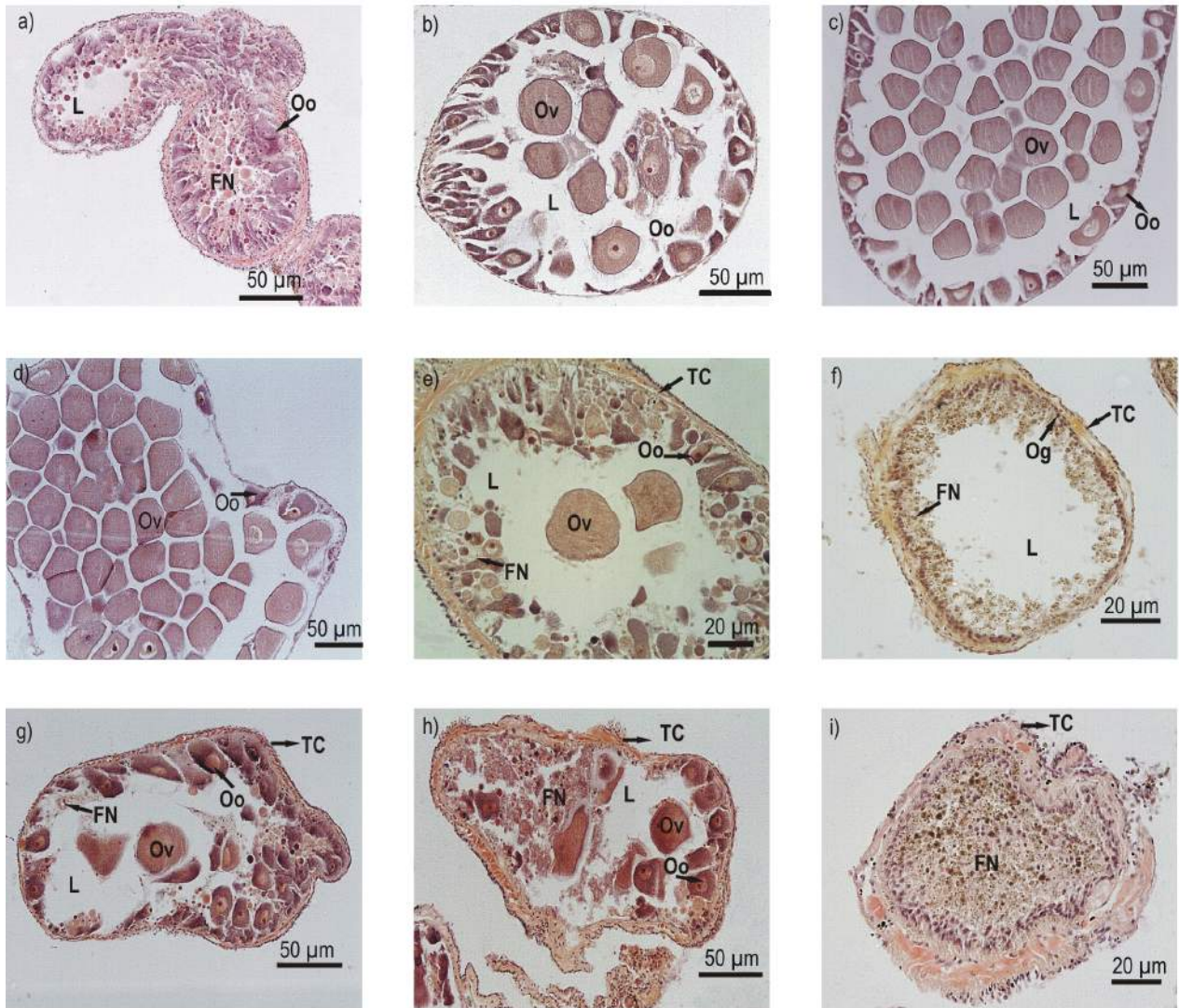


Figura 9. Oogénesis de *Arbacia dufresnii* a-b) Fases de Crecimiento; c) Fase de premadurez; d) Fase de madurez; e) Fase de Desove Parcial; f) Fase de desove; g-h-i) Fases de Recuperación.
 Abreviaturas: FN: fagocitos nutritivos; L: lumen; Og: oogonia; Oo: oocito; Ov: óvulo TC: tejido conectivo.

4.2~ Machos

La espermatogénesis se dividió en seis estadios diferentes (Figura 10)

*** Fase de Crecimiento**

Esta fase se caracteriza por la proliferación celular. Las espermatogonias y columnas de espermátocitos se encuentran adheridos a la pared acinal. La cantidad de espermatozoides en el lumen es relativamente escasa. Es posible ver fagocitos nutritivos ubicados detrás de las columnas espermáticas. El tejido conectivo es delgado y poco visible (Figura 10a, b y c).

*** Fase de Premadurez**

Esta fase se caracteriza por una mayor presencia de espermatozoides en el lumen. La proliferación sigue siendo importante, aunque las columnas de espermátocitos son más pequeñas. Los fagocitos nutritivos siguen observándose por debajo de las columnas espermáticas. El tejido conectivo se observa delgado y poco visible (Figura 10d).

*** Fase de Madurez**

Esta fase se caracteriza por la presencia de acinos repletos de espermatozoides empaquetados en el lumen. Los fagocitos nutritivos forman una pequeña capa en la periferia. Algunos acinos poseen espermatogonias adheridas a la pared acinal. El tejido conectivo es delgado y poco visible (Figura 10e).

*** Fase de Desove Parcial**

Esta fase se caracteriza por la presencia de menor cantidad de espermatozoides en el lumen. Se observan espermatogonias periféricas y, en algunos acinos, columnas espermáticas poco desarrolladas. Los fagocitos nutritivos se encuentran en la periferia. El tejido conectivo es laxo y más grueso (Figura 10f).

*** Fase de Desove**

Esta fase se caracteriza por poseer el lumen acinal vacío o bien con espermatozoides residuales. Se observa una capa delgada de espermatogonias y, en algunos acinos, columnas espermáticas poco desarrolladas. Los fagocitos nutritivos se encuentran en mayor cantidad en la periferia. El tejido conectivo es laxo y grueso (Figura 10g)

*** Fase de Reabsorción**

Esta fase se caracteriza por la presencia de columnas espermáticas poco desarrolladas adheridas a la pared acinal. Algunos acinos presentan abundantes fagocitos nutritivos con pocos espermatozoides residuales (Figura 10h) y en otros, los fagocitos nutritivos ocupan todo el lumen (Figura 10i). En todos, el tejido conectivo es visible y grueso.

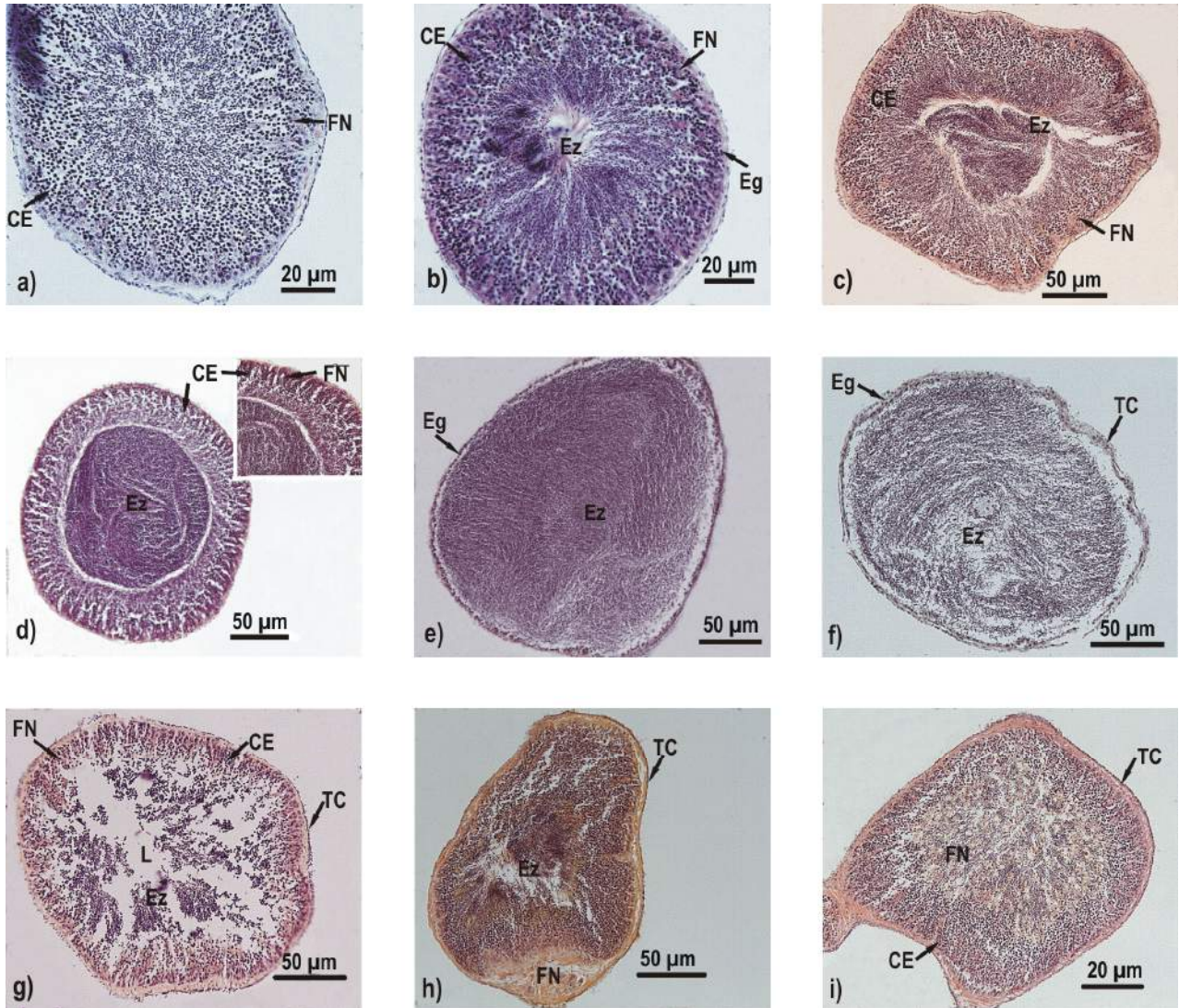


Figura 10. Espermatogénesis de *Arbacia dufresnii*. a-b-c) Fases de Crecimiento; d) Fase de Premadurez índex: detalles de fagocitos nutritivos y columnas espermáticas; e) Fase de madurez; f) Fase de Desove Parcial; g) Fase de desove; h-i) Fases de Recuperación. Abreviaturas: FN: fagocitos nutritivos; CE: columna de espermatoцитos; Eg: espermatogonia; Ez: espermatozoides; L: lumen; TC: tejido conectivo.

4-3~ Ciclo reproductivo:

En las hembras, la gametogénesis se desarrolló desde marzo hasta septiembre, cuando se alcanzó la madurez, seguida de un prolongado período de desove parcial y reabsorción durante la primavera (Figura 11).

En los machos, la gametogénesis se desarrolló entre marzo y septiembre/octubre. Durante la primavera y el verano se observaron individuos en los estadios de madurez, desove y desove parcial. La reabsorción se registró en noviembre y diciembre. El análisis histológico del mes de febrero se realizó sobre un único individuo que se encontraba en el estadio de desove parcial (Figura 12).

Se puede afirmar entonces, que los ciclos reproductivos de machos y hembras fueron relativamente sincrónicos, ya que se observó crecimiento de gametas de marzo a septiembre/octubre para ambos sexos. Las hembras presentaron un desove parcial prolongado en primavera mientras que los machos siguieron madurando y desovando sin un predominio de individuos en estadio de desove parcial.

Enero y febrero corresponden al ciclo reproductivo anterior ya que se evidencian madurez, desove y reabsorción (Figuras 11 y 12).

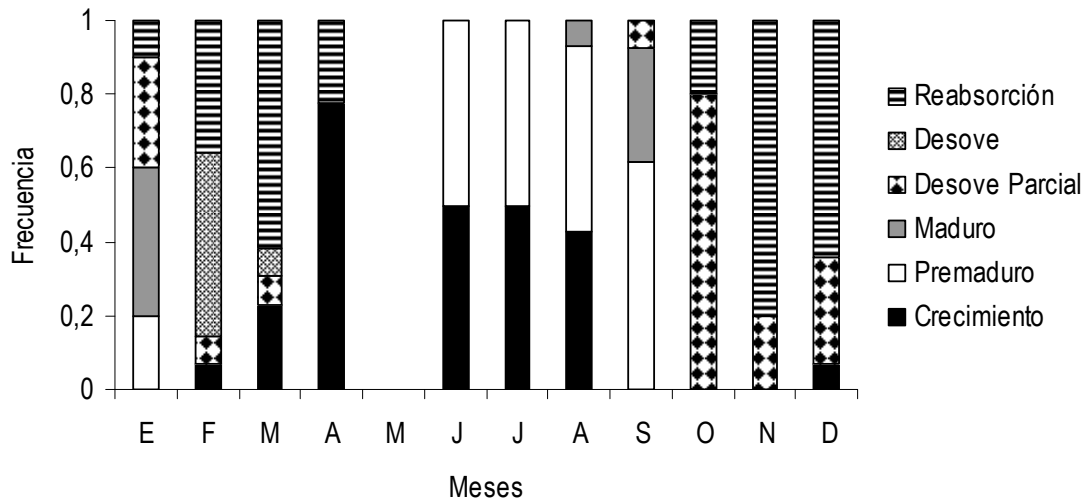


Figura 11. *Arbacia dufresnii*. Distribución temporal de los diferentes estadios de desarrollo gonadal en hembras.

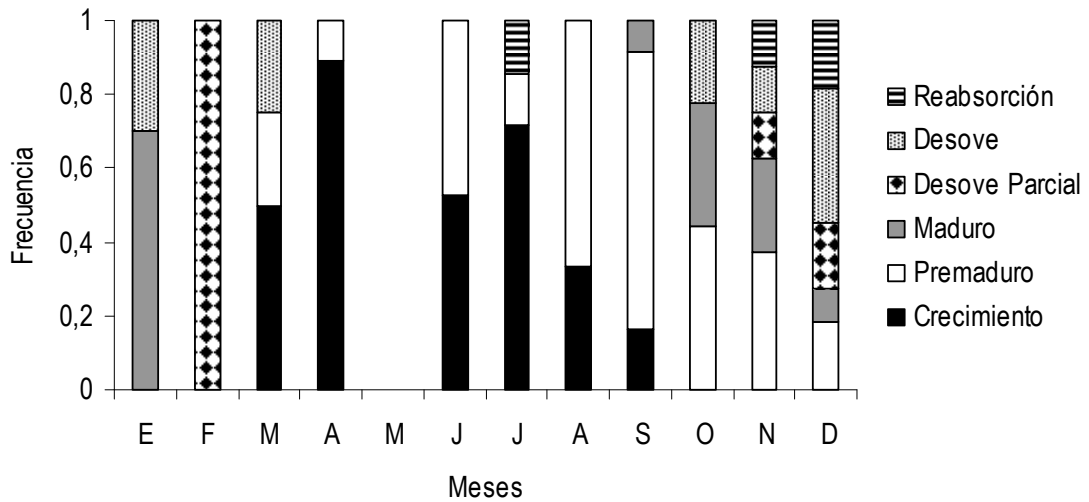


Figura 12. *Arbacia dufresnii*. Distribución temporal de los diferentes estadios de desarrollo gonadal en machos.

5~ Ciclo bioquímico

El análisis del ciclo bioquímico se realizó sobre un ciclo reproductivo completo: de marzo a diciembre de 2008. Los resultados correspondientes a los meses de enero y febrero no se consideraron, porque corresponderían al ciclo reproductivo anterior.

5-1~ Hidratos de Carbono

5-1-1~ Gónadas

Los niveles de carbohidratos de las gónadas difirieron de acuerdo al sexo (*t* de Student, $t=4,20$, $p<0,05$). Las hembras mostraron el valor máximo en agosto; y mínimo en noviembre (ANOVA, $F=7,30$, $p<0,05$). En los machos, los niveles de carbohidratos difirieron significativamente mostrando en junio el valor mínimo y a partir de ese momento, los niveles crecieron hasta octubre, cuando se obtuvo el máximo (ANOVA, $F=6,74$, $p<0,05$) (Tabla 1).

El contenido de carbohidratos presentó diferencias según el sexo (*t* de Student, $t=2,81$, $p<0,05$); en ambos el contenido de hidratos de carbono varió mensualmente. En las hembras, los valores máximos se encontraron en agosto y septiembre, meses con mayoría de individuos premaduros y maduros, y el mínimo valor se registró en diciembre, cuando el estadio de reabsorción fue el predominante (ANOVA, $F=42,20$, $p<0,05$) (Figura 13). En los machos el mínimo valor se obtuvo en octubre al comenzar el desove y el máximo se observó en septiembre, cuando el estadio predominante fue el de premadurez (ANOVA, $F=50,51$, $p<0,05$) (Figura 14).

5-1-2~ Intestino

Los niveles de carbohidratos en los intestinos variaron por sexo (*t* de Student, $t=2,83$, $p<0,05$). En las hembras el máximo nivel se presentó en abril y el mínimo en diciembre (Kruskal-Wallis, $H=26,06$, $p<0,05$). Los niveles máximos y mínimos en los machos se observaron en abril y junio, respectivamente (ANOVA, $F=7,88$, $p<0,05$) (Tabla 1).

El contenido de hidratos de carbono de los intestinos mostró variaciones significativas entre los sexos (*t* de Student, $t=2,80$, $p<0,05$). En las hembras se registró un valor máximo en septiembre y mínimo en noviembre (ANOVA, $F=38,35$, $p<0,05$) (Figura 13). En el intestino de los machos el contenido de carbohidratos también mostró el valor máximo en septiembre, mientras que el mínimo se registró en octubre (Kruskal-Wallis, $H=26,80$, $p<0,05$) (Figura 14).

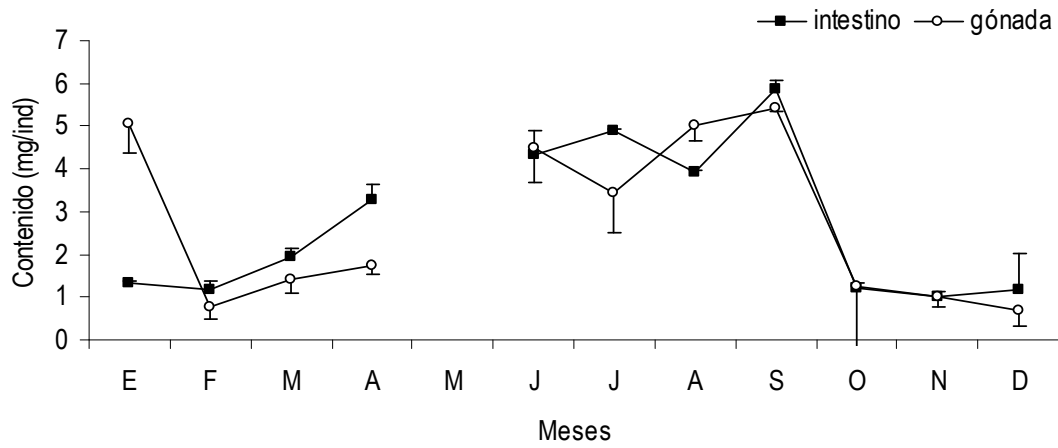


Figura 13. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del contenido de carbohidratos en las gónadas (\bar{x} -DE) e intestinos (\bar{x} +DE) de hembras.

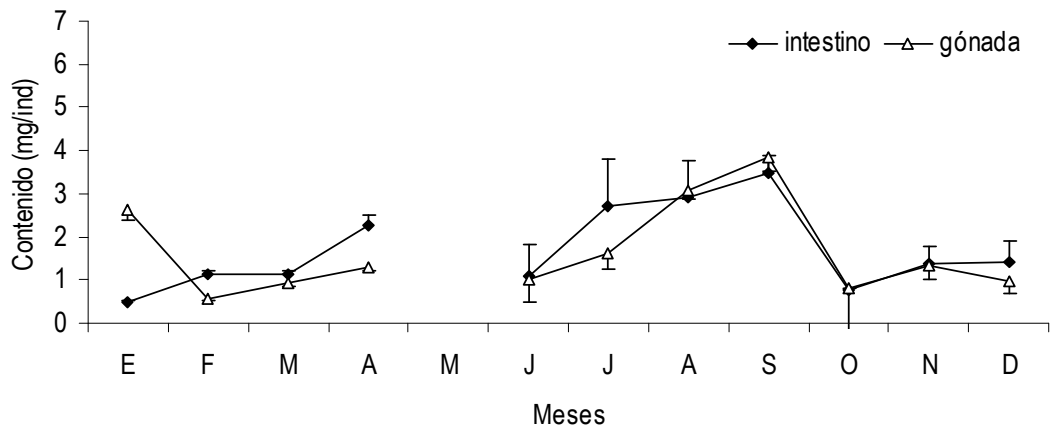


Figura 14. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del contenido de carbohidratos en las gónadas (\bar{x} -DE) e intestinos (\bar{x} +DE) de machos.

5-2~ Lípidos

5-2-1~ Gónadas

Los niveles de lípidos de las gónadas difirieron según el sexo (*t* de Student, $t=7,17$, $p<0,05$). En las hembras, los valores máximos se registraron en agosto. El mínimo valor se observó en abril (ANOVA, $F=9,58$, $p<0,05$). En cambio, en los machos los valores disminuyeron durante el crecimiento hasta llegar al mínimo en los meses de junio y julio; luego volvieron a aumentar progresivamente hasta diciembre (ANOVA, $F=3,26$, $p<0,05$) (Tabla 1).

El contenido lipídico difirió entre los sexos (*t* de Student, $t=2,48$, $p<0,05$). En las hembras, el máximo valor se observó en septiembre, coincidiendo con un predominio de individuos en estadio de premadurez y madurez. El mínimo se registró en diciembre, coincidente con la etapa de reabsorción (ANOVA, $F=144,59$, $p<0,05$) (Figura 15). En los machos, el máximo se observó en septiembre, cuando predominaron los individuos en estadio de premadurez. Los valores mínimos en octubre (ANOVA, $F=29,35$, $p<0,05$) (Figura 16).

5-2-2~ Intestino

Los niveles de lípidos de los intestinos de los machos fueron tres veces más altos que los de las hembras. Estos valores fueron anormalmente altos, y no se consideraron en la discusión.

En las hembras, en los meses de julio y agosto se registraron los valores máximos y en marzo se registró el valor mínimo (ANOVA, $F= 2,54$, $p<0,05$). Los valores máximos en los intestinos de los machos se hallaron en julio y agosto, mientras que el valor mínimo se registró en diciembre (Kruskal-Wallis, $H=23, 53$, $p<0,05$) (Tabla 1).

En cuanto a los contenidos, en las hembras, los valores mínimos y máximos se registraron en marzo y julio, respectivamente (ANOVA, $F=30,27$, $p<0,05$) (Figura 15); en los machos, el máximo se observó en julio y el mínimo, en octubre (Kruskal-Wallis, $H=28,42$, $p<0,05$) (Figura 16).

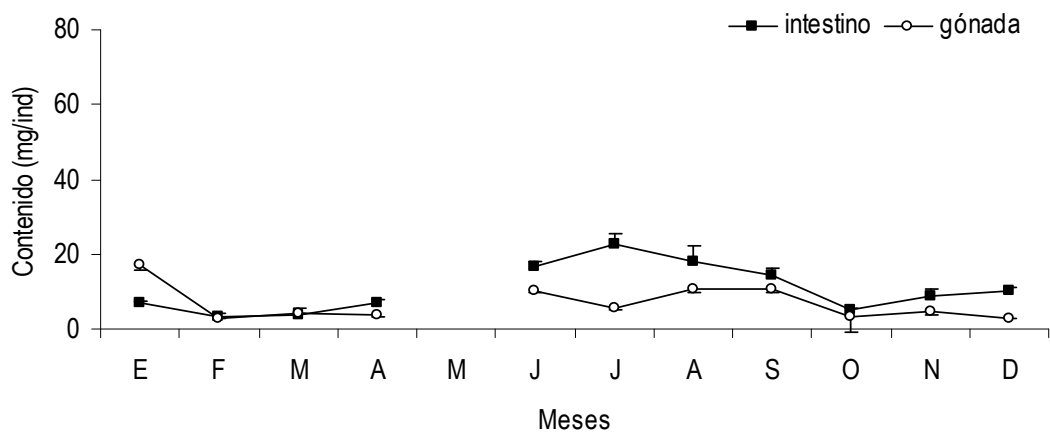


Figura 15. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del contenido de lípidos en las gónadas (\bar{x} -DE) e intestinos (\bar{x} +DE) de hembras.

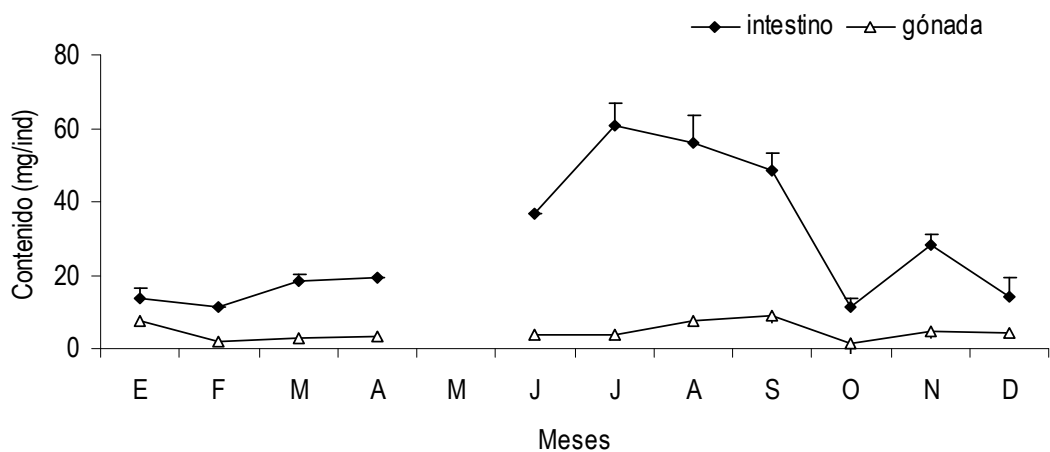


Figura 16. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del contenido de lípidos en las gónadas (\bar{x} -DE) e intestinos (\bar{x} +DE) de machos.

5-3~ Proteínas

5-3-1~ Gónadas

Los niveles de proteínas presentaron diferencias según el sexo (*t* de Student, $t=11,95$, $p<0,05$). En las hembras, el máximo valor se observó en marzo y los valores permanecieron relativamente constantes en el resto del período estudiado (ANOVA, $F=4,93$, $p<0,05$). En los machos, el nivel de proteínas osciló mensualmente alrededor de la media ($57,13 \pm 6,04$) (ANOVA, $F=0,86$, $p>0,05$) (Tabla 1).

El contenido de proteínas no difirió entre los sexos (*t* de Student, $t=1,62$, $p>0,05$). En las hembras, en los meses con la mayoría de individuos en estadio de premadurez (septiembre) se presentaron los valores máximos, mientras que los mínimos se registraron en meses con predominio de individuos en estadio de desove parcial (octubre) y reabsorción (diciembre) (ANOVA, $F=100,49$, $p<0,05$) (Figura 17). Por otra parte, en los machos, el mes con la mayoría de individuos en estadio de premadurez (septiembre) fue el que presentó el máximo valor y los mínimos se registraron en octubre (Kruskal-Wallis, $H=27,06$, $p<0,05$) (Figura 18).

5-3-2~ Intestino

No se encontraron diferencias significativas en el nivel de proteínas en el intestino de los machos y de las hembras (*t* de Student, $t=1,92$, $p>0,05$). En las hembras, los valores variaron mensualmente, durante la primavera se registraron los valores mínimos ($37,17 \pm 1,38$) (Kruskal-Wallis, $H=20,87$, $p<0,05$). En los machos, se obtuvieron niveles oscilantes, y tanto en junio como en la primavera se registraron los mínimos valores (Kruskal-Wallis, $H=22,84$, $p<0,05$) (Tabla 1).

El contenido de proteínas no presentó diferencias según el sexo (*t* de Student, $t=0,44$, $p>0,05$). En las hembras, en el mes de julio se obtuvo el máximo valor y el mínimo, en octubre (ANOVA, $F=64,72$, $p<0,05$) (Figura 17). En los machos, los valores máximos y mínimos se encontraron en los mismos meses que en las hembras (julio y octubre, respectivamente) (Kruskal-Wallis, $H=27,93$, $p<0,05$) (Figura 18).

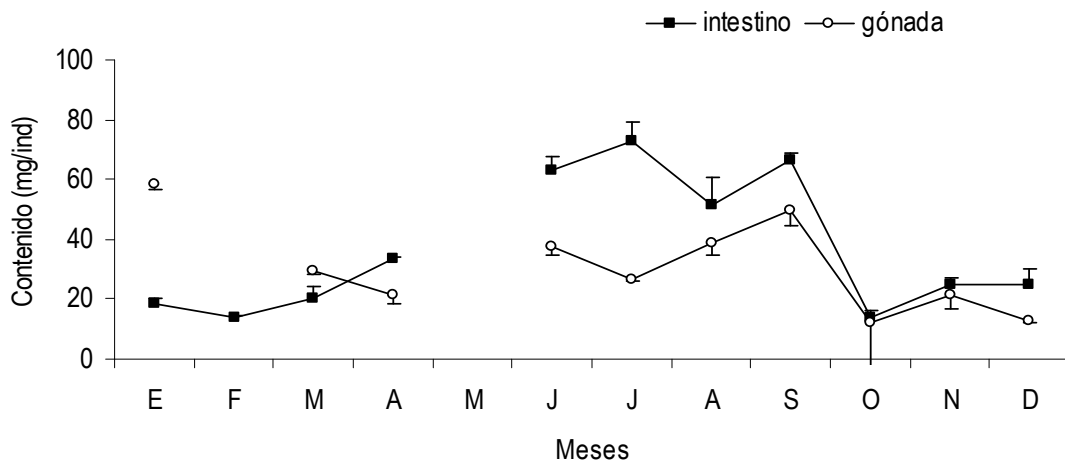


Figura 17. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del contenido de proteínas en las gónadas (\bar{x} -DE) e intestinos (\bar{x} +DE) de hembras.

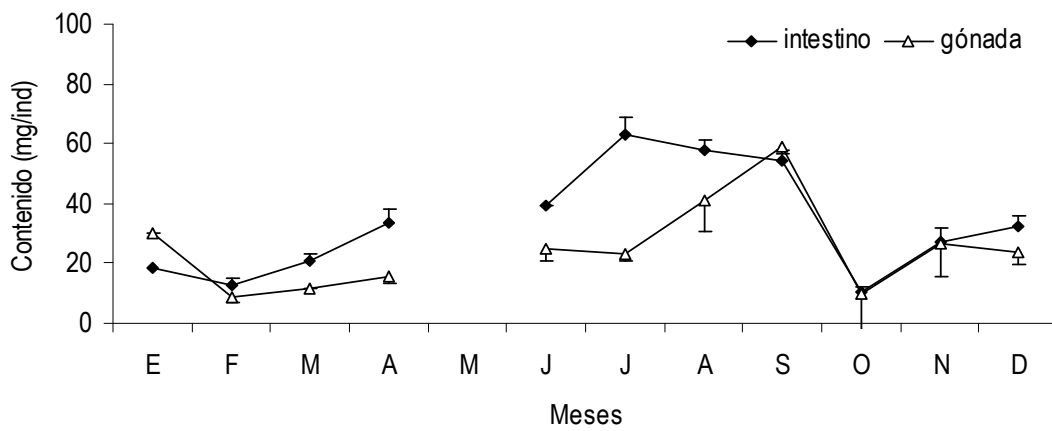


Figura 18. *Arbacia dufresnii*. Variación mensual del contenido de proteínas en las gónadas (\bar{x} -DE) e intestinos (\bar{x} +DE) de machos.

Tabla 1. Niveles (%) de cada componente en gónadas e intestinos de hembras y machos de *Arbacia duffresnii*.

	Niveles (%) de componentes de Hembras						Niveles (%) de componentes de Machos					
	Gónadas			Intestino			Gónadas			Intestino		
	Lípidos	Proteínas	Hidratos de Carbono	Lípidos	Proteínas	Hidrato de Carbono	Lípidos	Proteínas	Hidrato de Carbono	Lípidos	Proteínas	Hidrato de Carbono
Enero	17,35	58,32	5,06	18,00	48,89	3,57	11,59	44,77	3,97	64,00	2,22	86,38
Febrero	15,56		4,95	12,95	55,47	4,69	13,51	65,78	4,53	44,94	4,64	52,03
Marzo	11,84	83,71	3,95	11,32	57,83	5,59	12,74	55,28	4,37	58,78	3,64	65,83
Abril	10,92	65,14	5,34	12,56	57,71	6,12	12,45	59,72	5,04	40,14	4,73	70,37
Junio	18,53	67,36	8,08	16,31	61,07	4,21	8,45	54,46	2,28	45,02	1,34	48,11
Julio	12,53	58,94	7,61	17,99	58,30	3,92	8,55	53,85	3,71	59,19	2,64	61,18
Agosto	17,30	64,38	8,31	18,01	51,76	3,95	9,64	52,63	3,94	60,17	3,14	62,28
Septiembre	13,55	63,32	6,86	11,70	53,66	4,73	9,77	63,52	4,12	50,56	3,63	56,74
Octubre	15,29	60,07	6,38	13,15	37,24	3,33	9,47	56,27	4,64	40,49	2,70	36,74
Noviembre	15,46	73,07	3,38	13,69	38,52	1,59	10,69	58,21	2,90	48,73	2,33	47,17
Diciembre	14,07	68,29	3,56	13,07	35,76	1,52	11,47	63,96	2,58	22,32	2,27	51,82

5.4~ Transferencia de nutrientes

Durante la gametogénesis, se halló correlación positiva entre el contenido de carbohidratos de las gónadas e intestinos de los machos. Para los demás nutrientes, no hubo correlación significativa entre los contenidos respectivos de gónadas e intestinos ni en machos ni en hembras (Tabla 2). Estos resultados sugerirían que no se transfirieron nutrientes de los intestinos a las gónadas. Sin embargo, se pudo observar una transferencia de lípidos entre julio y septiembre para las hembras: el contenido de lípidos en los intestinos descendió $8,0 \text{ mg.individuo}^{-1}$ y el aumento en las gónadas fue de $5,0 \text{ mg.individuo}^{-1}$.

Tabla 2. Correlación de Spearman para los distintos componentes bioquímicos

	Hembras		Machos	
	r_s	p	r_s	P
Hidratos de Carbono	0,77	> 0,05	0,94	< 0,05
Lípidos	0,43	> 0,05		
Proteínas	0,26	> 0,05	0,60	> 0,05

5-5~ Energía

5.5.1~ Producción de biomasa

Los machos presentaron mayor producción de biomasa que las hembras en las gónadas durante la gametogénesis. El mayor aporte se debió a las proteínas en todos los órganos analizados (Tabla 3).

Para las hembras, la acumulación de energía durante el período de gametogénesis fue mayor en los intestinos ($1,59 \text{ kJ.individuo}^{-1}$) que en las gónadas ($0,82 \text{ kJ.individuo}^{-1}$) (Tabla 3).

5.5.2~ Esfuerzo Reproductivo

El esfuerzo reproductivo fue $1,27 \text{ kJ.individuo}^{-1}$ para las hembras y de $1,19 \text{ kJ.individuo}^{-1}$ para los machos. Las hembras invirtieron aproximadamente 1,3 veces más energía proveniente de lípidos y carbohidratos que los machos (Tabla 4).

Tabla 3. Producción de biomasa en gónadas de ambos sexos y en intestino de hembras de *Arbacia dufresnii*. Abreviaturas: mad: madurez (septiembre) y crec: crecimiento (marzo)

Componente	Hembras				Machos	
	Gónadas		Intestino		Gónadas	
	Δ Masa _{mad-crec} (mg)	Δ Energía _{mad-crec} (kJ)	Δ Masa _{mad-crec} (mg)	Δ Energía _{mad-crec} (kJ)	Δ Masa _{mad-crec} (mg)	Δ Energía _{mad-crec} (kJ)
Carbohidratos	4,01	0,08	3,94	0,07	2,91	0,05
Lípidos	6,48	0,26	10,62	0,42	6,41	0,25
Proteínas	20,24	0,48	46,63	1,10	46,46	1,10
Producción de biomasa	30,73	0,82	61,19	1,59	55,78	1,40

Tabla 4. Esfuerzo reproductivo en ambos sexos de *Arbacia dufresnii*.

Abreviaturas: Mad: madurez y Des: devove.

Hembras: septiembre – octubre; Machos: septiembre – Promedio de octubre, noviembre y diciembre.

Componente	Hembras		Machos	
	Δ Masa _{Mad-Des} (mg)	Δ Energía _{Mad-Des} (kJ)	Δ Masa _{Mad-Des} (mg)	Δ Energía _{Mad-Des} (kJ)
Carbohidratos	4,13	0,07	2,81	0,05
Lípidos	7,61	0,30	5,49	0,22
Proteínas	37,87	0,90	39,03	0,92
Esfuerzo Reproductivo	49,61	1,27	47,33	1,19

DISCUSIÓN

La población estudiada de *Arbacia dufresnii* en el Golfo Nuevo difirió de una proporción de sexos 1:1, presentando un mayor número de individuos hembras. Una desviación de la proporción de sexos también fue observada por Brogger (2005) para la misma especie, con la diferencia de que los individuos machos fueron los que predominaron. Estas discrepancias podrían indicar que las desviaciones encontradas pueden deberse a sesgos en las muestras por azar. Estudios realizados en Argentina para otras especies de erizos no han encontrado desviaciones de la proporción 1:1 (*Pseudochinus magellanicus*, Marzinelli *et al.*, 2006; *Loxechinus albus*, Pérez *et al.*, 2009). Las especies gonocóricas de equinodermos típicamente muestran una proporción similar de sexos (Lawrence, 1987).

Los equinoideos son capaces de adaptar sus parámetros fisiológicos en respuesta a la temperatura (Moore, 1935), hidrodinámica (Edwards y Ebert, 1991), calidad del hábitat (Delmas y Regis, 1984), calidad y cantidad de alimento disponible (Lawrence y Lane, 1982) y a la densidad de individuos. Aparentemente, la densidad poblacional afecta tanto la talla como el índice gonadal. En *Evechinus chloroticus* (Andrew, 1986) y en *P. lividus* (Guettaf y San Martín, 1995) se observó que el índice gonadal aumentó al disminuir la densidad de los erizos. En *P. lividus*, el índice gonadal en altas densidades de erizos fue un 30% menor que en los individuos en densidades naturales (Tomas *et al.*, 2005). En *Diadema antillarum* se encontró una relación inversa entre el diámetro de la testa y la densidad poblacional (Levitan, 1988). Esto sugeriría que a alta densidad poblacional se reducen el tamaño corporal y la producción de gametas; por lo tanto el número de cigotos *per capita* disminuiría. Sin embargo, este descenso en la producción de gametas estaría compensado por un incremento del éxito reproductivo en alta densidad poblacional (Levitan, 1991). A su vez, en *S. franciscanus* se observó que el grado de agregación y el tamaño del grupo aumentan el éxito de la fertilización *per capita* (Levitan *et al.*, 1992). En *A. dufresnii*, Brogger (2005) encontró una talla media (30,70 mm) mayor que la encontrada en este estudio (25,59 mm). A su vez, el índice gonadal también fue mayor (14%) que el encontrado en este estudio (8%). La disminución en la talla y en el índice gonadal en *A. dufresnii* podría deberse a el aumento de la densidad poblacional observado en Bahía Kaiser en los últimos años (Rubilar, comentario personal).

El conocimiento de los procesos fisiológicos a través del análisis de los índices de los compartimentos corporales permite dilucidar cuánto y cómo cada órgano participa en el requerimiento energético del organismo (Black *et al.*, 1984; Lawrence y Byrne, 1994). Se

encontraron bajos valores del índice intestinal en *P. lividus* que correspondieron a altos valores del índice gonadal, sugiriendo una probable reducción de espacio en la cavidad celómica cuando las gónadas estaban totalmente desarrolladas (Fernández y Boudouresque, 1997). A su vez, otros autores han observado que algunos equinoideos se alimentan a baja tasa cuando las gónadas están totalmente desarrolladas (Lawrence, 1987; Lumingas, 1994; Lozano *et al.*, 1995). Sin embargo, Lawrence y Lane (1982) sugirieron que los cambios en el índice intestinal reflejan la cantidad de alimento ingerida en un período determinado. En *A. lixula* las variaciones en los índices gonadales e intestinales se correlacionaron positivamente y las gónadas no eran voluminosas, por lo que el intestino tendría espacio celómico para su desarrollo (Tavares, 2004). En *A. dufresnii* los índices gonadales e intestinales presentaron similares patrones de variación: el índice intestinal de las hembras fue mayor que el gonadal, mientras que en los machos no hubo diferencias significativas. Esto indicaría que la existencia de suficiente espacio celómico para ambos órganos y el índice intestinal reflejaría una buena condición nutricional.

El índice gonadal es un estimativo del peso relativo que ocupa la gónada en el cuerpo del organismo, no siempre es una medida precisa que refleja lo que ocurre dentro del tejido gonádico. En *P. magellanicus*, en el Golfo Nuevo, se observó un ciclo reproductivo anual con dos eventos de liberación de gametas; donde el índice gonadal reflejó los estadios gonadales (Marzinelli *et al.*, 2006). En cambio, en *L. albus*, en el Canal de Beagle, aunque el índice gonadal presentaba dos caídas bruscas, que podrían indicar dos episodios de desove, los análisis histológicos evidenciaron un ciclo anual con un único evento de desove (Pérez *et al.*, 2009). En el presente estudio, el análisis del índice gonadal muestra un desove marcado, sin embargo, de acuerdo al análisis histológicos; *A. dufresnii* presentó un ciclo anual con liberación de gametas prolongada durante la primavera y verano resultados que coinciden con el estudio de Brogger (2005).

Durante el ciclo reproductivo, las hembras presentaron estadios más marcados con diferencias entre la liberación de gametas de primavera y la de verano, siendo el primero un desove parcial y el segundo, uno total, evidenciado por la predominancia de individuos en estadio de reabsorción. En los machos, en cambio, las diferencias entre los desoves de primavera y verano fueron más leves: durante toda la primavera se encontraron individuos en todos estadios (excepto crecimiento), sin que hubiese una mayoría de individuos con desove parcial. Brogger (2005) sugirió una liberación de gametas intermitente, lo que produciría una disminución de la competencia de las larvas por el alimento y evitaría las eventuales mortalidades masivas por depredación o factores ambientales adversos.

La composición bioquímica encontrada en *A. dufresnii* fue similar a la de otras especies de equinoideos. Las proteínas fueron el principal componente de gónadas e intestinos. Los lípidos y los carbohidratos se encontraron en menores proporciones (Tabla 5). Tales semejanzas en la distribución de los componentes bioquímicos se deben a la organización de los distintos órganos, que es similar en todos los equinoideos independientemente de la especie y región geográfica (Lawrence y Guille, 1982; McClintock y Pearse, 1987).

Tabla 5. Tabla comparativa de la composición bioquímica de distintas especies de equinoideos.

Especie	Lugar	Tejido	% Cenizas	% Hidratos de Carbono	% Lípidos	% Proteínas	Fuente
<i>Abatus shackletoni</i>	McMurdo,	Gónadas	12,3	4,6	27	56,2	McClintock y
	Antártida	Intestino	60,3	1,6	3,7	34,5	Pearse, 1987
<i>Arbacia lixula</i>	Brasil	Gónadas		6 - 49,3	13,1 - 43,3	39 - 88	Tavares, 2004
		Intestino		2,6 - 20,7	9,6 - 77,4	35,2 - 87	
<i>Echinometra lucunter</i>	Brasil	Gónadas		6 - 49,3	15,3 - 34,5	27,7 - 60,5	Tavares, 2004
		Intestino		2,4 - 25	13,1 - 43,3	51 - 90,3	
<i>Paracentrotus lividus</i>	Francia	Gónadas	5 - 10	5 - 15	12-18	30 - 45	Fernández, 1998
		Intestino	3 - 13	3,4 - 12,6	10,6 - 27,2	33 - 45	
	España	Gónadas	7 - 14	7 - 25,4	12,8 - 16,1	36 - 60,1	Montero-Torreiro 2003
		Intestino	28,6 - 38,1	2,3 - 6,1	6,4 - 9,9	21,4 - 42	
<i>Arbacia dufresnii</i>	Argentina	Gónadas		2,28 - 8,31	8,45 - 18,53	44,8 - 83,7	Presente trabajo
		Intestino		1,34 - 6,12	11,32 - 64	36,7 - 70,4	

Antes de comenzar el desarrollo gamético, las gónadas de los erizos acumulan nutrientes (proteínas, lípidos y carbohidratos) en los fagocitos nutritivos en ambos sexos para luego ser utilizados durante la etapa proliferativa (Walker *et al.*, 2001). En *A. dufresnii*, estas células disminuyeron gradualmente en tamaño durante el crecimiento de las gametas, lo que indicaría que actuaron proveyendo nutrientes a la células germinales para llevar a cabo la gametogénesis.

Durante el ciclo reproductivo, ocurren transferencias, acumulación y síntesis de reservas energéticas en las gónadas (Moss y Lawrence, 1972; Fenaux *et al.*, 1977; Magniez, 1983; Lawrence, 1987; McClintock, 1989; Lawrence y Byrne, 1994; Montero-Torreiro *et al.*, 1998) que, se ven reflejadas cuando se analiza el ciclo bioquímico. En *A. dufresnii* se observaron diferencias entre sexos en la composición bioquímica del tejido germinal.

Los carbohidratos se acumularon simultáneamente en gónadas e intestinos durante la gametogénesis, lo que indicaría que no existió transferencia de estos nutrientes entre ambos

órganos. *P. lividus* también presentó similares contenidos de glucógeno en gónadas e intestino, pero se observó un consumo de esas reservas para el desarrollo de las gametas (Fernández, 1998). En ese caso, los niveles de carbohidratos descendieron durante el período de maduración de las gametas, y la autora sugirió el uso de las reservas acumuladas en las gónadas para sostener el desarrollo.

En el presente estudio, el contenido de hidratos de carbono de las gónadas de hembras y machos al fin de la gametogénesis, fue marcadamente inferior al de los demás constituyentes bioquímicos: la relación carbohidratos/proteínas fue 0,11 y 0,06, respectivamente para cada sexo y la relación carbohidratos/lípidos fue de 0,50 y 0,42, respectivamente: lo que indicaría que no actuarían como principal proveedor de energía en las gónadas. La proporción entre los contenidos de carbohidratos hembras/machos en las gónadas en el mes en que predomina la madurez (septiembre) es 1,4; consistente con el mayor requerimiento energético de las hembras.

El análisis del contenido lipídico sugiere una acumulación de nutrientes durante el desarrollo gonadal. Los valores cayeron significativamente al desovar, lo que indicaría que los altos depósitos observados hacia finales de la gametogénesis corresponderían a almacenamiento en las gametas. *P. miliaris* presentó diferencias en la composición lipídica de ambos sexos antes del desove, mientras que la composición se igualó luego de este evento, lo que indica que estos componentes se depositaron en las gametas durante la última etapa de la gametogénesis (Hughes *et al.*, 2006).

Las hembras de *A. dufresnii* presentaron mayores valores de contenido lipídico que los machos. Según Magniez (1983) esto se debe a que los óvulos poseen mayores depósitos de lípidos que los espermatozoides, ya que deben afrontar los gastos energéticos del desarrollo embrional. Este patrón fue observado en numerosas especies: *A. lixula* (Fenaux, 1977); *Heliocidaris erythrogramma*, *Heliocidaris tuberculata* (Lawrence y Byrne, 1994) y *P. lividus* (Fernández, 1998). La proporción entre los contenidos de lípidos hembras/machos en el mes en que predomina la madurez (septiembre) es 1,17. Valores similares fueron hallados en *S. franciscanus* (Greenfield *et al.*, 1958), *S. variolaris* (Giese *et al.*, 1964) y *S. neumayeri* (Pearse y Giese, 1966).

En las hembras, se observó una leve transferencia de lípidos entre intestinos y gónadas en el período julio-septiembre, coincidiendo con la etapa de maduración de las gametas. En el caso de los machos, a pesar de que los valores obtenidos para los intestinos fueron inusualmente altos, la tendencia de la variación anual sugiere la misma transferencia, y sigue el mismo patrón que en las hembras. Los valores de lípidos transferidos desde los intestinos fueron mayores que los

acumulados en las gónadas, lo que indica que este componente bioquímico habría sido parcialmente utilizado como fuente de energía para la biosíntesis de tejidos gaméticos, además de acumularse. En la especie antártica *Abatus cordatus* (Magniez, 1983) se consideró que el intestino fue el proveedor de nutrientes para llevar a cabo la gametogénesis. Individuos de *S. purpuratus* (Lawrence *et al.*, 1966) sometidos a baja disponibilidad de alimento afrontaron la gametogénesis utilizando los lípidos y carbohidratos del intestino.

Las proteínas se acumularon simultáneamente en gónadas e intestinos durante la gametogénesis, lo que indicaría que tampoco hubo transferencia de estos nutrientes entre ambos órganos.

El contenido de proteínas en las gónadas superó al de los demás componentes bioquímicos analizados y acompañó al índice gonadal en ambos sexos, tal como se encontró en *P. lividus* (Fernández, 1998). El contenido de proteínas del intestino también acompañó al índice respectivo en ambos sexos. Esto sería un indicador de su papel eminentemente estructural, constitutivo de tejidos somáticos y germinales. Los altos valores de proteínas de los distintos órganos encontrados en *E. lucunter* y *A. lixula* se atribuyeron a su rol estructural (Tavares, 2004). La función estructural de las proteínas en la gametogénesis fue estudiada por Unuma *et al.* (2003), que analizaron la composición de las proteínas de las gametas de *P. depressus*. La proteína mayoritaria provendría de la biosíntesis por parte de los equinoideos, a partir de las proteínas de la ingesta. Una vez biosintetizada, esta proteína se acumula en los fagocitos nutritivos de las gónadas, desde la cual se utilizaría durante la gametogénesis como material sintético de partida tanto para el desarrollo de las gametas masculinas como femeninas y finalmente, una fracción de esta proteína se acumula formando gránulos en los óvulos maduros.

Las gónadas de los machos presentaron mayor contenido de proteínas que las de las hembras al final de la gametogénesis. En este mismo periodo el contenido de proteínas en los machos fue casi cinco veces mayor que la suma del contenido de lípidos y carbohidratos; mientras que en las hembras, esta relación fue de tres. El mismo patrón se observó en *A. cordatus* (Magniez, 1983). Esto podría deberse al mayor número de células sexuales presentes en las gónadas de los machos, comparados con el número de óvulos presentes en las gónadas de las hembras.

La gametogénesis requiere tanta energía que, en general, los animales utilizan gran parte del año para prepararse para este evento, tanto nutricional como fisiológicamente (Ferguson, 1975). La disponibilidad de alimento determina la cantidad de nutrientes disponibles para ser utilizados en los distintos procesos fisiológicos (Lawrence y Lane, 1982). En experimentos realizados en

Arbacia punctulata y *L. variegatus* a menor cantidad de alimento los individuos consumían las reservas de nutrientes acumulados y aumentaban la eficiencia en la absorción de energía para llevar a cabo la gametogénesis (Hill y Lawrence, 2006). De acuerdo a Lawrence y Lane (1982) mientras mayor sea la disponibilidad de alimento, los equinoideos almacenarán más nutrientes en el intestino, lo que se verá reflejado tanto en los valores de los índices, como en su composición bioquímica. En *A. dufresnii* se observó una única transferencia de nutrientes del intestino a las gónadas en las hembras y acumulación de reservas lipídicas, de carbohidratos y de proteínas simultánea en ambos órganos para ambos sexos. Esto reflejaría entonces, una alta disponibilidad de alimento, al menos durante la gametogénesis. El hecho de que los nutrientes estarían siendo utilizados para la producción de gametas y a su vez se estarían acumulando en el intestino, indicaría que el erizo presenta una buena condición nutricional en el Golfo Nuevo.

En estudios de composición bioquímica asociada al ciclo reproductivo es útil calcular la contribución teórica que cada componente (lípidos, carbohidratos, proteínas) podría aportar, efectuando un balance de energía acumulada en cada órgano analizado, en cada estadio reproductivo. Este análisis no supone de manera alguna entrar en consideraciones metabólicas acerca de la biodisponibilidad de cada componente y su uso a nivel celular. Estudios histoquímicos y metabólicos podrían aclarar la ruta metabólica de cada componente bioquímico. Sin embargo, el análisis efectuado como balance de masa/energía permite estimar cuáles son los componentes bioquímicos almacenados y/o consumidos durante la gametogénesis y especular sobre su posible procedencia. En el presente estudio, al analizar el aporte de energía provisto por cada componente bioquímico por individuo, surge que, sin considerar los valores de los intestinos de los machos, el término correspondiente al valor energético acumulado a partir de proteínas parece ser el más importante. Si bien las proteínas rinden menos energía que los lípidos por unidad de masa, al ser el constituyente mayoritario en términos de contenido total, al efectuar el balance de masa/energía aparecen como el aportante principal en términos cuantitativos. Cabe aclarar, sin embargo, que estos valores, no constituyen reales reservas energéticas disponibles para el metabolismo. Es sabido que las proteínas, por su estabilidad química, no son el constituyente de reserva energética inmediata, sino más bien como se dijo más arriba, cumplen un rol estructural, como reservorio de aminoácidos para la biosíntesis de otras proteínas y compuestos nitrogenados, incluyendo nucleótidos y ácidos nucleicos (Unuma *et al.*, 2003).

Si bien los carbohidratos son considerados una fuente de energía de disponibilidad inmediata, en *A. dufresnii*, su contribución parece ser más limitada para la gametogénesis. Situaciones

similares se observaron en *S. purpuratus* (Giese, 1966), *A. shackletoni* (McClintock y Pearse, 1987), *A. lixula* (Fenaux *et al.*, 1977; Tavares, 2004), *E. lucunter* (Tavares, 2004) y *P. lividus* (Fernández, 1998; Montero-Torreiro, 2003).

En *A. dufresnii* los requerimientos energéticos durante la gametogénesis estarían siendo provistos por la ingesta de alimentos y, por la pequeña transferencia de lípidos observada de intestinos a gónadas.

En invertebrados marinos la estimación empírica de la inversión reproductiva se establece como la reducción de la masa gonadal en relación con la masa corporal; la disminución del contenido energético gonadal luego del desove respecto a los valores energéticos totales y la energía invertida en la producción de gametas. Diferentes autores denominan estas estimaciones como esfuerzo reproductivo (Griffiths y King, 1979; Lucas, 1982; Parry, 1982; McClintock y Pearse, 1986; Chow, 1987; MacDonald y Bourne, 1987; McClintock, 1989; Liu, 1994; Miller y Lawrence, 1999; Raymond *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2009) y se aplican para realizar comparaciones entre sexos; diferentes poblaciones o especies. De esta forma, el esfuerzo reproductivo puede evaluarse en términos de masa o de energía durante el desove. Según Miller y Lawrence (1999), las medidas en base a la energía, especialmente cuando se fundan en los resultados de la determinación de composición proximal, son más exactas pues las variaciones en masa de los órganos incluyen el agua y cenizas, que enmascaran la información. En *A. dufresnii*, el esfuerzo reproductivo fue mayor para las hembras. En *L. albus* se encontró una situación similar, con mayores valores de energía para las hembras (Pérez *et al.*, 2009). La mayor diferencia entre sexos encontrada en el presente estudio, se debió al origen de la energía aportada: en ese período, el 24% de la energía consumida en las gónadas de las hembras fue aportada por los lípidos, mientras que éstos sólo aportaron el 18% de la energía en las gónadas de los machos. Así, las gónadas de las hembras consumieron 1,3 veces más energía aportada de lípidos que las de los machos. En el caso de los carbohidratos, el aporte fue menor en ambos sexos (5,6% en las hembras y 4,0% en los machos).

En *A. cordatus* se encontró que si bien el índice gonadal de las hembras fue más bajo que el de los machos, su esfuerzo reproductivo fue un 40% mayor (Magniez, 1983). De acuerdo al autor, las hembras compensaron la desventaja del menor índice acumulando más energía. En *A. dufresnii*, las hembras también presentaron menor índice gonadal que los machos, lo que fue compensado por un mayor contenido energético. El mayor índice gonadal de los machos podría deberse a que éstos presentaron un prolongado desove, lo que implicaría que las gónadas deban sostener la producción de un número alto de gametas durante un intervalo mayor. Esto

también explicaría la mayor producción de biomasa (en términos de energía) encontrada en los machos durante el período de la gametogénesis.

El aumento de la densidad de la población, la alta disponibilidad de alimento y la buena condición nutricional de *Arbacia dufresnii* que se podrían inferir a partir de las observaciones de realizadas en este trabajo de Seminario, podrían relacionarse con la presencia del alga invasora *Undaria pinnatifida*. El reclutamiento en la población de *U. pinnatifida* ha crecido en los últimos años (Casas *et al.*, 2008). Esta alga provee una nueva fuente de alimento para *A. dufresnii* y de esta forma podría verse afectada la comunidad (Orensanz *et al.*, 2002). *A. dufresnii* es una especie omnívora, que en ausencia de algas, se alimenta del bivalvo *Mytilus edulis platensis* (Penchaszadeh y Lawrence, 1998). Teso *et al.* (2009) corroboraron que el erizo se alimenta de esta alga en las aguas del Golfo Nuevo. Los resultados de la composición bioquímica observados en el presente estudio, pueden ser consecuencia de la presencia de esta nueva fuente de alimento que se encuentra en abundancia. Así, la presencia de *U. pinnatifida* aseguraría alta disponibilidad de nutrientes durante la gametogénesis. En el corto plazo se efectuarán estudios sobre la dieta de esta población que ayudarán a corroborar o desechar esta hipótesis.

CONCLUSIÓN

El erizo de mar *Arbacia dufresnii* posee un ciclo bioquímico directamente relacionado con el ciclo reproductivo en las costas del Golfo Nuevo y presenta diferencias entre los sexos.

La composición bioquímica de los distintos órganos es similar, presentando una mayor proporción de proteínas, seguida por los lípidos y por último los carbohidratos.

La población de *A. dufresnii* muestra una buena condición nutricional; ya que tanto el intestino como las gónadas actúan como órganos de almacenamiento. Las gónadas del equinoideo se comportan como un órgano dual, que cumple dos funciones: producción de gametas y almacenamiento de energía.

BIBLIOGRAFÍA

Alves, S. L. S., A. D. Pereira y C. R. R. Ventura. 2002. Sexual and asexual reproduction of *Coscinasterias tenuispina* (Echinodermata:Asteroidea) from Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Biology* 140:95-101.

Andrew, N. L. 1986. The interaction between diet and density in influencing reproductive output in the echinoid *Evechinus chloroticus* (Val.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 97:63-79.

Ansell, A. D. y A. Trerallion. 1967. Studies on *Tellina tenuis* da Gosta. Seasonal growth and biochemical cycle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 1:220-235.

Barker, M. F. y R. A. Xu. 1991. Seasonal changes in biochemical composition of body walls, gonads and pyloric caeca in two populations of *Sclerasterias mollis* (Echinodermata:Asteroidea) during the annual reproductive cycle. *Marine Biology* 109:27-34.

Barnes, H., M. Barnes y D. M. Finlayson. 1963. The seasonal changes in body weight, biochemical composition and oxygen uptake of two common boreo-artic cirripedes *Balanus balanoides* and *B. balanus*. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom* 43:167-181.

Bernasconi, I. 1953. Monografía de los Equinoideos Argentinos. *Anales Museo Historia Natural*, 2ª Ser. 6(2):57.

Bernasconi, I. 1966. Los equinoideos y asteroideos colectados por el buque oceanográfico R/V Vema, frente a las costas argentinas, uruguayas y sur de Chile. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*, Zoología. 9(7):147-175.

Bigatti, G., E. M. Marzinelli, M. Cledón y P. E. Penchaszadeh. 2004. Gonadal cycle of *Pseudochinus magallanicus* (Philippi, 1857) (Echinoidea: Temnopleuridae) from Patagonia, Argentina. Pag. 11-14 en *Echinoderms: Munich*. Taylor & Francis Group, Munich.

Bishop, C. y S. Watts. 1992. Biochemical and morphometric study of growth in the stomach and intestine of the echinoid *Lytechinus variegates* (Echinodermata). *Marine Biology* 114:459-467.

Black, R., C. Cood, D. Herbbert, S. Vink y J. Burt. 1984. The functional significance of the relative size of Aristotle's lantern in the sea urchin *Echinometra mathaei* (de Blainville). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 77:81-97.

Booolootian, R. A. 1966. Reproductive biology. Pag. 590-601 en R. A. Booolootian, editor. Physiology of Echinodermata. Interscience, New York.

Brockington, S., A. Clarke y A.L.G. Chapman 2001. Seasonality of feeding and nutritional status during the austral winter in the Antarctic sea urchin *Sterechinus neumayeri*. Marine. Biology 139:127-138.

Brody, S. 1945. Bioenergetics and growth. Hafner Publishing Co, New York.

Brogger, M. 2005. Biología reproductiva del erizo verde *Arbacia dufresnii* (Blainville, 1825) en costas del Golfo Nuevo, Patagonia. Tesis de Licenciatura. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Byrne, M. 1990. Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. Marine Biology 104:275-289.

Casas, G. N., M. L. Piriz y E. R. Parodi. 2008. Population features of the invasive kelp *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae: Laminariales) in Nuevo Gulf (Patagonia, Argentina). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 88:21–28.

Chia, F. S. y C. W. Walker. 1991. Echinodermata: Asteroidea Pag. 301–353 en A. C. Giese, J. S. Pearse, y V. B. Pearse, editores. Reproduction of marine invertebrates. Boxwood Press, California.

Chow, V. 1987. Patterns of growth and energy allocation in northern California populations of *Littorina* (Gastropoda: Prosobranchia). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 110:69–89

De Vido de Mattio, N. 1980. Influencia de la temperatura y de la producción primaria en la variación estacional de la composición química y peso de *Aulacomya ater ater* en Golfo Nuevo-Chubut. Contribución Científica CENPAT 38:1-22.

Delmas, G. y M. B. Regis. 1984. Influence d'une pollution complexe a dominante domestique sur les populations de l'echinoide comestible *Paracentrotus lividus* (Lamarck). Vie Marine 6:63-72.

Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28:350-356.

Edwards, P. B. y T. A. Eber. 1991. Plastic responses to limited food availability and spine damage in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 145:205-220.

Fenaux, L., G. Malara, C. Cellario, R. Charra y I. Palazzoli. 1977. Évolution des constituants biochimiques des principaux compartiments de l'oursin *Arbacia lixula* (L.) au cours d'un cycle sexuel et effets d'une jêune de courte durée au cours de la maturation sexuelle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 28:17-30.

Ferguson, J. C. (1975). Fatty acid and carbohydrate storage in the annual reproductive cycle of *Echinaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 52:585-590.

Fernández, C. 1998. Seasonal Changes in the Biochemical Composition of the Edible Sea Urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata:Echinoidea) in Lagoonal Environment. *Marine Ecology* 19:1-11.

Fernández, C. y C. F. Boudouresque. 1997. Phenotypic plasticity of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in a lagoonal environment. *Marine Ecology Progress Series* 152:145-154.

Galley, E. A., P. A. Tyler, A. Clarke y C. R. Smith. 2005. Reproductive biology and biochemical composition of the brooding echinoid *Amphipneustes lorioli* on the Antarctic continental shelf. *Mar. Biol.* 148:59-71.

Giese, A. C. 1966. On the Biochemical Constitution of some echinoderm. Pag. 757-796 en R. A. Boolootian, editor. *Physiology of Echinodermata*. Interscience, New York.

Giese, A. C. y J. S. Pearse. 1975. Introduction: General principles. Pag. 1-49 en G. A. C. and P. J.S., editors. *Reproduction of Marine Invertebrates*. Academic Press, New York.

Giese, A. C., S. Krishnaswamy, B. S. Vasu y J. M. Lawrence. 1964. Reproductive and biochemical studies on a sea urchin, *Stomopneustes variolaris*, from Madras Harbor. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 13:367-380.

Greenfield, L., A. C. Giese, A. Farmanfarmaian y R. A. Boolootian. 1958. Cyclic biochemical changes in several echinoderms. *Journal of Experimental Zoology*. 139:507-524.

Griffiths C L y J A King. 1979. Energy expended on growth and gonad output in the ribbed mussel *Aulacomya ater*. *Marine Biology* 53:217-222.

Guettaf, M. y G. A. San Martin. 1995. Etude de la variabilité de l'indice gonadique de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinidae) en Méditerranée Nord-occidentale. *Vie et Milieu* 45:129-137.

Hammer, B. W., H. S. Hammer, S. A. Watts, R. A. Desmond, J. M. Lawrence y A. L. Lawrence. 2004. The effects of dietary protein concentration on feeding and growth of small *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Marine Biology* 145:1143-1157.

Hendler, G., J. E. Miller, D. L. Pawson y P. M. Kier. 1995. Sea stars, sea urchins and allies. Smithsonian Institution Press, Washington y Londres.

Hill, S. K. y J. M. Lawrence. 2006. Interactive effects of temperature and nutritional condition on the energy budgets of the sea urchins *Arbacia punctulata* and *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*. 86 783-790.

Hughes, A. D., M. S. Kelly, D. K. A. Barnes, A. I. Catarino y K. D. Black. 2006. The dual functions of sea urchin gonads are reflected in the temporal variations of biochemistry. *Marine Biology* DIO 10.1007/s00227-005-0124-0.

Lares, M. T. y J. M. Lawrence. 1994. Nutrient and energy allocation during arm regeneration in *Echinaster paucispinus* (Clark) (Echinodermata: Asteroidea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 180:49-58.

Larrain, A., E. Mutschke, A. Riveros y E. Solar. 1999. Preliminary report on Echinoidea and Asteroidea (Echinodermata) of the Joint Chilean-German-Italian Magellan "Victor Hensen" Campaign, 17 October - 25 November 1991. *Scientia Marina*. 63:433-438.

Lawrence, A. L., M. Byrne, L. Harris, B. Keegan, S. Freeman y B. C. Cowell. 1999. Sublethal arm loss in *Asterias amurensis*, *A. rubens*, *A. vulgaris*, and *A. forbesi* (Echinodermata: Asteroidea). *Vie et Milieu* 49:69-73.

Lawrence, A. L. y A. Ellwood. 1991. Simultaneous allocation of resources to arm regeneration and somatic and gonadal production in *Luidia clathrata* (Say) (Echinodermata: Asteroidea). Pag. 543-548 en Yanagisawa, Yasumasu, C. Oguro, Suzuki y T. Motokama, editores. *Biology of Echinodermata*. Balkema, Rotterdam.

Lawrence, A. L. y A. Guille. 1982. Organic composition of tropical, polar and temperate-water echinoderms. *Comparative Biochemistry and Physiology* 72B:283-287.

Lawrence, J. M. 1987. A functional biology of Echinoderms. en P. Calow, editor. Functional Biology Series. Croom Helm, London.

Lawrence, J. M. 1973. Level, content, and caloric equivalents of the lipid, carbohydrate and protein in the body components of *Luidia clathrata* (Echinodermata: Asteroidea: Platyasterida) in Tampa Bay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 11:263-274.

Lawrence, J. M. y M. Byrne. 1994. Allocation of resources to body components in *Heliocidaris erythrogramma* and *Heliocidaris tuberculata* (Echinodermata: Echinoidea). *Zoological Science* 11:133-137.

Lawrence, J.M. y P. Lane. 1982. The utilization of nutrients by post-metamorphic echinoderms. Pag. 331-372 en *Echinoderm nutrition*. A. A. Balkema, Rotterdam.

Lawrence, J. M., A. L. Lawrence y A. C. Giese. 1966. Role of the gut as a nutrient storage organ in the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) *Physiological Zoology*. 39:281-290.

Levitan, D. R. 1991. Influence of body size and population density on fertilization success and reproductive output in a free-spawning invertebrate. *Biological Bulletin* 181:261-268.

Levitan, D. R. 1988. Density-dependent size regulation and negative growth in the sea urchin *Diadema antillarum* Philippi. *Oecologia* 76:621-629.

Levitan, D. R., M. A. Sewell y F. S. Chia. 1992. How distribution and abundance influence fertilization success in the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*. *Ecology* 73:248-254.

Liu, J. H. 1994. The ecology of the Hong-Kong Limpets *Cellana grata* (Gould 1859) and *Patelloida pygmaea* (Dunker 1860), reproductive biology. *Journal of Molluscan Studies*. 2(60):97-111.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr y R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193:265-275.

Lozano, J., J. Galera, S. Lopez, X. Turon, C. Palacin y G. Morera. 1995. Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in 2 contrasting habitats. *Marine Ecology - Progress Series*. 122:179-191.

Lucas, A. 1982. Evaluation of reproductive effort in bivalve molluscs. *Malacología* 22:183-187.

Lumingas, L. J. L. 1994. La plasticite chez l'oursin: cas de *Sphaerechinus granularis* en rade de Brest (Bretagne, France). PhD. Univ Bretagne Occidentale, Brest, France.

MacDonald B. A. y N. F. Bourne. 1987. Growth, reproductive output, and energy partitioning in weathervane scallops, *Pactinopecten caurinus*, from British Columbia. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 44:152–160

Magniez, P. 1983. Reproductive cycle of the brooding echinoid *Abatus cordatus* (Echinodermata) in Kerguelen (Antarctic ocean): changes in the organ indices, biochemical composition and caloric content of the gonads. Marine Biology 74:55-64.

Marzinelli, E. M., G. Bigatti, J. Giménez y P. E. Penchaszadeh. 2006. Reproduction of the sea urchin *Pseudechinus magellanicus* (Echinoidea: Temnopleuridae) from Golfo Nuevo, Argentina. Bulletin of Marine Science 79:127-136.

McClary, D. y M. Barker. 1998. Reproductive isolation? Interannual variability in the timing of reproduction in sympatric sea urchins, genus *Pseudechinus*. Invertebrate Biology 117:75-93.

McClintock, J. B. 1989. Energetic composition, reproductive output and resource allocation of Antarctic Asteroids. Polar Biology 9:147–153

McClintock, J. B., T. S. Hopkins, S. A. Watts y K. R. Marion. 1990. The biochemical and energetic composition of somatic body components of echinoderms from the northern Gulf of Mexico. Comparative Biochemistry and Physiology 95A:529-532.

McClintock, J. B. y J. S. Pearse. 1987. Biochemical composition of Antarctic echinoderms. Comparative Biochemistry and Physiology 86B:683-687.

McClintock J. B. y J.S. Pearse. 1986. Organic and energetic content of eggs and juveniles of antarctic echinoids and asteroids with lecithotrophic development. Comparative Biochemistry and Physiology 85A:341–345

Miller, S. R. y J. M. Lawrence. 1999. Gonad and pyloric caeca production in the nine-armed starfish *Luidia senegalensis* off the southwest Florida gulf coast during the annual reproductive cycle. Bulletin of Marine Science 65:174-184.

Montero Torreiro, M. F. y P. Garcia Martinez. 2003. Seasonal changes in the biochemical composition of body components of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, in Lorbé (Galicia, north-western Spain). Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom 83:575-581.

Montero Torreiro, M. F., P. Garcia Martinez, J. L. Catoira y G. Mosquera. 1998. Seasonal variation in biochemical composition in gonads of the sea urchin, *Paracentrotus lividus* LMK. en Moore and Telford, editores. Echinoderm Research. Balkema, Netherlands.

Moore, H. B. 1935. A comparison of the biology of *Echlnus esculentus* in different habitats. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom* 20:109-128.

Moss, J. E. y J. M. Lawrence. 1972. Changes in carbohydrates, lipids and proteins levels with age and season in the sand dollar *Mellita quinquesperforata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 8:225-229.

Orensanz, J. M., E. Schwindt, G. Pastorino, A. Bortolus, G. Casas, G. Darrigran, R. Elías, J. J. López Gappa, S. Obenat, M. Pascual, P. Penchaszadeh, M. L. Piriz, F. Scarabino, E. D. Spivak y E. A. Vallarino. 2002. No Longer a Pristine Confine of the World Ocean - A Survey of Exotic Marine Species in the Southwestern Atlantic. *Biological Invasions* 4:115-143.

Oudejans, R. C. H. M. y I. Van der Sluis. 1979. Changes in the biochemical composition of the ovaries of the seastar *Asterias rubens* during its annual reproductive cycle. *Marine Biology* 50:255-261.

Parry, G D. 1982. Reproductive effort in four species of intertidal limpets. *Marine Biology* 67:262-282.

Pastor de Ward, C. T., T. Rubilar, M. E. Díaz de Vivar, X. González Pisani, E. Zárate, M. Kroeck, and E. Morsan. 2006. Reproductive biology of *Cosmasterias lurida* (Echinodermata:Asteroidea) an anthropogenically influenced substratum from Golfo Nuevo, Northern Patagonia (Argentina). *Marine Biology* DOI 10.1007/s00227-006-0479-x.

Pearse, J. S. y R. A. Cameron. 1991. Echinodermata: Echinoidea. Pag. 513-662 en A. C. Giese, J. S. Pearse, y V. B. Pearse, editores. *Reproduction of marine invertebrates*. The Boxwood Press, Pacific Grove, California.

Pearse, J. S. y A. C. Giese. 1966. Food, reproduction and organic constitution of the common Antarctic echinoid *Sterechinus neumayeri* (Meissner). *Biological Bulletin*. 130:387-401.

Penchaszadeh, P. y J. M. Lawrence. 1999. *Arbacia dufresnei* (Echinodermata: Echinoidea): A carnivore in Argentinian waters. Pag. 525-530 en B. MDCCF, editor. *Echinoderm Research*. A.A. Balkema, Rotterdam

Penchaszadeh, P. E., G. Bigatti y P. Miloslavich. 2004. Feeding of *Pseudechinus magallanicus* (Philippi, 1857) (Echinoidea: Temnopeluridae) in the SW Atlantic Coast (Argentina). *Ophelia* 58:91-99.

Pérez, A. F., C. Boy, E. Morriconi y J. Calvo. 2009. Reproductive cycle and reproductive output of the sea urchin *Loxechinus albus* (Echinodermata: Echinoidea) from Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina. *Polar Biology*. 10.1007/s00300-009-0702-6

Raymond, J.F., J. H. Himmelman y H. E. Guderley. 2004. Sex differences in biochemical composition, energy content and allocation to reproductive effort in the brooding sea star *Leptasterias polaris*. *Marine Ecology - Progress Series* 283:179-190.

Rubilar, T., C. T. Pastor de Ward y M. E. Díaz de Vivar. 2005. Sexual and Asexual reproduction of *Allostichaster capensis* (Echinodermata:Asteroidea) in Golfo Nuevo. *Marine Biology* 146:1083-1090.

Ruppert, E. E., y R. D. Barnes. 1996. *Zoología de los Invertebrados*. Sexta edición, México.

Tavares, Y. A. G. 2004. *Biología reproductiva dos equinóides Echinometra lucunter (Linnaeus, 1758) e Arbacia lixula (Linnaeus, 1758) na Ilha da Galheta, litoral paranaense, Brasil* PhD. Thesis. Universidade Federal do Paraná.

Sibuet, M. y J. M. Lawrence. 1981. Organic content and biomass of abyssal Holothuroids (Echinodermata) from the Bay of Biscay. *Marine Biology* 65:143-147

Teso, S. V., G. Bigatti, G. N. Casas, M. L. Piriz y P. E. Penchaszadeh. 2009. Do native grazers from Patagonia, Argentina consume the invasive kelp *Undaria pinnatifida*? *Revista Museo Argentino de Ciencias Naturales* 11:7-14.

Tomas, F., J. Romero y X. Turon. 2005. Experimental evidence that intra-specific competition in seagrass meadows reduces reproductive potential in the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck). *Scientia Marina* 69:475-484.

Unuma, T., T. Yamamoto, T. Akiyama, M. Shiraiishi y H. Ohta. 2003. Quantitative changes in yolk protein and other components in the ovary and testis of the sea urchin *Pseudocentrotus depressus*. *The Journal of Experimental Biology*. 206:365-372.

Vásquez, J., J. C. Castilla y B. Santelices. 1984. Distributional patterns and diets of four species of sea urchins in giants kelp forest (*Macrocystis pyrifera*) of Puerto Toro, Navarino Islands, Chile. *Marine Ecology - Progress series* 19:55-63.

Walker, C. W., T. Unuma, N. A. McGinn, L. M. Harrington y M. P. Lesser. 2001. Reproduction of sea urchins. in J. M. Lawrence, editor. *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology* Elsevier, Amsterdam.

Watts, S. A. y J. M. Lawrence. 1982. Effect of starvation on enzyme activities and nutrient stores in the pyloric caeca of *Echinaster* sp (Echinodermata: Asteroidea). *Comparative Biochemistry and Physiology* 72B:461-463.

Wilson, I. y M. Gamble. 2002. The hematoxylin and eosin. Pag. 796 en J. D. Bancroft y M. Gamble, editores. *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier, London.

Zar, J. H. 1984. *Bioestatistical analysis*. Prentice Hall, New York.

Zöllner, N. y K. Z. Kirsch. 1962. Über die quantitative bestimmung von Lipoiden (Mikromethode) mittels der vielen natürlichen Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) gemeinsamen Sulfophosphovanilin-Reaktion. *Z. Ges. Exp. Med.* 135:545 - 561.