

ISSN 0327-8050

Naturalia

patagónica

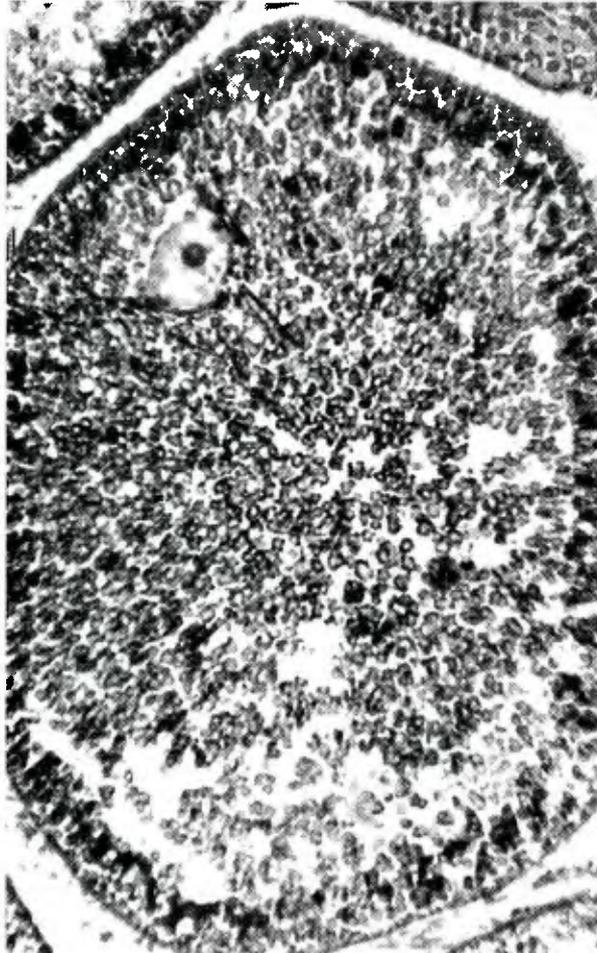
CIENCIAS BIOLÓGICAS

VOLUMEN 6

NUMEROS 1-2

DICIEMBRE 1998

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PATAGONIA S. J. BOSCO



NATURALIA PATAGONICA

Serie: Ciencias Biológicas, Volumen 6 (1-2) (1998).

Facultad de Ciencias Naturales

Universidad Nacional de la Patagonia S. J. Bosco

EDITOR

HECTOR E. ZAIXSO

DIRECTOR

ALICIA L. BORASO

COMITE EDITOR

Néstor R. Hirtz
Juan C. Sciutto
Alicia L. Boraso
Mabel S. Feijóo
María A. Fajardo
Susana Risso
Mónica Casarosa
Rita Kurdelas
Isella Gutierrez
María Carballo

Departamento de Geología
Departamento de Geología
Departamento de Biología General
Departamento de Biología General
Departamento de Bioquímica
Departamento de Bioquímica
Departamento de Farmacia
Departamento de Farmacia
Departamento de Química
Departamento de Enfermería

CONTENIDO

ARTICULO DE REVISION

PIZZOLON, L. Descomposición de las macrofitas en ambientes de agua dulce1 - 27

ARTICULOS CIENTIFICOS

MALACALZA, V., BERTELOTTI, M. & PORETTI, T. Presencia de nematodos (*Contracaecum sp.*) en "pellets" del cormoran real (*Phalacrocorax albiventer*) en punta León, Chubut, Argentina 29 - 34

VINUESA, J. H. & LABAL de VINUESA, M. La gametogenesis de la centolla, *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Crustacea, Decapoda, Lithodidae) 35 - 49

CASAS, G. N. & PIRIZ, M. L. Cultivo experimental de la agarífera *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) en golfo Nuevo, Argentina 51 - 69

ROST, E., RICO, A., CARSTENS, M. R., PERALES, S. & PEREZ, L. Producción de ácidos grasos poliinsaturados n-3 de la microalga marina *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin) 71 - 88

NOTAS

LOVRICH, G. A., CASALINUOVO, M. A., MOLINA, S. I., CARCAMO, C. & PIEROTTI, R. Las langostillas *Munida subrugosa* y *M. gregaria* (Decapoda, Anomura) como potencial recurso economico patagónico 88 - 92



CONTENTS

REVISION ARTICLE

- PIZZOLON, L. Decomposition of macrophytes in freshwater environments 1 - 27

RESEARCH ARTICLES

- MALACALZA, V., BERTELLOTTI, M. & PORETTI, T. Nematodes (*Contra-caecum sp.*) in pellets of the king cormorant (*Phalacrocorax albiventer*) in Punta León, Chubut, Argentina 29 - 34

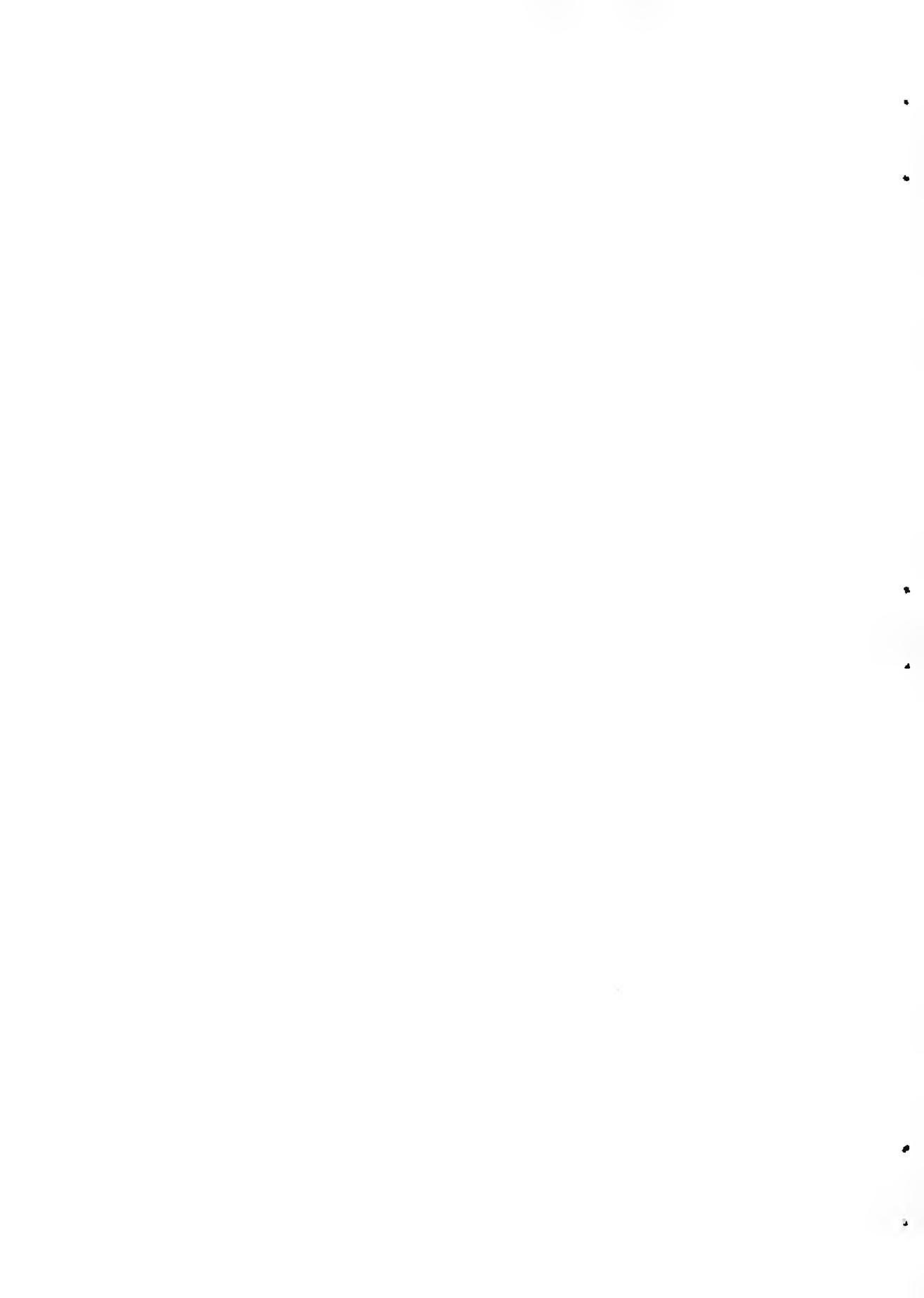
- VINUESA, J. H. & LABAL de VINUESA, M. The gametogenesis in the southern king crab *Lithodes santolla* (Molina, 1782)..... 35 - 49

- CASAS, G. N. & PIRIZ, M. L. Experimental cultivation of the agarophyte *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rodophyta) in golfo Nuevo, Argentina 51 - 69

- ROST, E., RICO, A., CARSTENS, M. R., PERALES, S. & PEREZ, L. Production of n-3 polyunsaturated fatty acids from the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin) 71 - 88

NOTES

- LOVRICH, G. A., CASALINUOVO, M. A., MOLINA, S. I., CARCAMO, C. & PIEROTTI, R. The galatheid crabs *Munida subrugosa* and *M. gregaria* (Decapoda, Anomura) as patagonian potential economic resource 88 - 92



**DESCOMPOSICION DE LAS MACROFITAS EN
AMBIENTES DE AGUA DULCE.**

**Decomposition of macrophytes in freshwater
environments.**

Lino Pizzolon

Laboratorio de Ecología Acuática. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de la Patagonia S. J. Bosco. Sarmiento 849. 9200 Esquel. Chubut, Argentina.

RESUMEN

Se examinan los factores, procesos y organismos involucrados en la descomposición de las macrofitas y de la vegetación terrestre en ambientes acuáticos, con mayor énfasis en las zonas templado-frías, los ambientes lénticos, las macrofitas emergentes y en la descomposición por hongos. Se describen y analizan los procesos de lixiviación y colonización de la broza por microorganismos. Se analizan los factores externos (temperatura, pH, humectación, contenido de oxígeno disuelto, velocidad de la corriente, el estado trófico y el efecto de los predadores) que regulan dicha tasa, como así también la influencia del tipo de la broza (macrofitas emergentes, sumergidas, mantillo, hojas o madera de la vegetación terrestre). Se resalta la importancia de la degradación de las macrofitas y del mantillo como fuente de detritus, sustancias

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

húmicas y materia orgánica disuelta, la cuales ligan metabólicamente el litoral y el pelagial de los lagos. El aporte litoral de materia orgánica disuelta, además de favorecer el desarrollo de organismos con capacidad de mixotrofia, alimentaría adicionalmente el ciclo microbiano en la zona pelágica (*sensu* Azam). Se esquematizan los procesos de descomposición de las macrofitas y de las relaciones entre el ambiente terrestre, litoral y pelagial. Para finalizar se llama la atención sobre la magnitud de la influencia del litoral sobre el pelagial en las lagunas del ecotono meseta - cordillera de Los Andes. Caracterizadas por densos anillos de *Schoenoplectus californicus*, la actividad fúngica parece dominar su metabolismo durante el período de descomposición de la macrofitia. Los pulsos anuales de materia orgánica disuelta, podrían explicar anomalías observadas en la zona pelágica, tales como la densidad máxima de cianobacterias, que se produce en primavera en lugar de fines de verano-otoño.

Palabras clave: macrofitas, descomposición, microheterótrofos, materia orgánica disuelta, Patagonia, dominancia de cianobacterias.

ABSTRACT

Factors, processes and organisms involved in macrophytes and leaf litter decomposition in freshwater were reviewed. Without being an exclusive criteria, the references were selected especially in relation to temperate-cold zones, lentic environments, emergent macrophytes and the decomposition by fungi. Lixiviation and colonization of litter are analyzed and described. The external factors which regulate the decomposition rate (temperature, pH, humidity, dissolved oxygen, stream speed, trophic state and the effect of grazers) are discussed, as well as the effects of the source of litter (standing or submersed macrophytes, humus, leaf litter or wood). The great importance of the macrophytes degradation is stressed, as source of detritus, humic substances, and dissolved organic matter, which metabolically link littoral and pelagic zone of lakes. The input of dissolved organic matter from littoral support the growth of mixotrophic organisms of the phytoplankton community and feed the microbial loop (*sensu* Azam) in the pelagic. A conceptual framework showing the main steps in macrophytes degradation and linking processes in the littoral and pelagic zone was designed, suggesting that these processes could be very important or dominant in lentic environments of the ecotono Andes mountain—Patagonian plateau. The breakdown

processes, characterized by dense stands of *Schoenoplectus californicus*, produce yearly pulses of dissolved organic matter, probably due mainly to fungal activity. These pulses could explain anomalies observed in the pelagic, such as the peak of cyanobacteriae at spring time instead of the end-summer or autumn.

Key words: macrophytes, decomposition, fungi, dissolved organic matter, Patagonia, cyanobacterial dominance.

1. INTRODUCCION

La biósfera lleva tras de sí, como una sombra, a la necrófera, cuya importancia se reconoce fácilmente, aunque su estudio no ha atraído la atención que debiera (Margalef, 1993).

Esta revisión se refiere a la descomposición de tejidos vegetales, en especial de macrofitas, por hongos y bacterias, y su importancia en los ecosistemas acuáticos. Sin ser excluyente, la búsqueda bibliográfica se orientó hacia los procesos de descomposición de macrofitas emergentes, en ambientes lénticos y en las regiones climáticas templado-frías.

Las macrofitas son los productores dominantes en la zona litoral de lagos y ríos, y frecuentemente también dominan en la franja no siempre cubierta por las aguas, el supralitoral o humedal. La zona litoral es tan importante para el metabolismo de las aguas libres como lo es la membrana plasmática para el funcionamiento de la célula. Sin embargo su estudio no ha sido tenido en

cuenta suficientemente hasta décadas recientes (Wetzel, 1990 a; 1990 b; Polunin, 1984).

Entre los motivos para la elección del tema, pueden mencionarse la importancia creciente que tiene en limnología el estudio de la zona litoral y los humedales (Wetzel, 1990 b). Por otra parte, en ciertos ambientes lénticos, el estudio del área pelágica ignorando las influencias de la región litoral, deja interrogantes importantes sin responder.

En la práctica limnológica corriente se define el estado trófico de los ambientes lacustres mediante modelos estadísticos que relacionan nutrientes limitantes con alguna variable indicadora de la biomasa o productividad del fitoplancton, generalmente la concentración de clorofila *a* (Sakamoto, 1966; Dillon & Rigler, 1974; Nicholls & Dillon, 1978; Janus & Vollenweider, 1982). Sin embargo, a medida que nos ocupamos de ambientes más pequeños, donde la importancia del área litoral en relación con el área pelágica es cada vez mayor,

dichos modelos son de poca o ninguna utilidad. En estos ambientes, el flujo principal de nutrientes y energía pasa por las macrofitas y el perifiton asociado, más que por el fitoplancton (Wetzel, 1983; Wetzel, 1990 b). De hecho en los ambientes con macrofitas se verifican desvíos de las predicciones Fósforo - Clorofila *a* (1990). No obstante ello, las macrofitas generalmente se han ignorado al definir el estado trófico de un ambiente (Leach & Herron, 1992).

Resulta también paradigmático que la clasificación de los ambientes acuáticos con fines de manejo se haya realizado casi exclusivamente en base a los procesos de producción y/o biomasa de materia viviente (anabólicos), mientras que los procesos de oxidación de materia orgánica (catabólicos), raramente se han empleado. Ello se explica en parte por el retraso con que comenzaron a estudiarse en relación con otras áreas de la limnología. Uno de los pocos sistemas integrales (clasificación en base a procesos anabólicos y catabólicos) fue propuesto por Schroder (1989), sin que su uso se haya extendido notoriamente.

Las aproximaciones taxonómicas del presente trabajo se realizaron en base a los trabajos de Cabrera (1964), Correa (1969) y Tur (1995). Los trabajos de Voronin (1991, 1992) fueron traducidos del ruso en forma fragmentaria. Se agradece a Alicia

Poi de Neiff y a Federico Emiliani las revisiones del texto y las fuentes bibliográficas sugeridas y/o proporcionadas.

En el texto se han utilizado las siguientes siglas y términos cuyo significado se aclara a continuación:

mallín: término de origen araucano, de uso ampliamente extendido en el corredor andino; indica zonas anegadizas o con afloramientos subterráneos sobre los que se desarrollan hidrófitos; es sinónimo de vega.

MOD: materia orgánica disuelta, menor de 0,5 μm ; (DOM, dissolved organic matter).

MOP: materia orgánica particulada (POM particulate organic matter).

MOPG: materia orgánica particulada gruesa, partículas mayores de 1 mm; (coarse POM).

MOPF: materia orgánica particulada fina, partículas menores de 1 mm; (fine POM).

2. IMPORTANCIA DE LA ZONA LITORAL EN EL FUNCIONAMIENTO DE LOS AMBIENTES ACUATICOS.

El trabajo de Likens (1984) "Beyond the shoreline..." expresa un cambio de paradigma muy importante en limnología. De una concepción de los lagos como sistemas cerrados, microcosmos, en la acepción ya secular de Forbes (1887, según Margalef,

1983) se ha pasado a concebirlos como sistemas abiertos, a mirar más allá de la orilla y a considerar las interrelaciones con el ecosistema terrestre. La unidad de estudio en limnología decididamente pasa a ser la cuenca hídrica en su conjunto. En algunos casos podemos visualizar una línea de costa simple como separación abrupta entre el ecosistema terrestre y el acuático, pero en la gran mayoría, no encontramos una línea sino toda una franja litoral-supralitoral, que actúa como zona de transición entre dos ecosistemas de características bien diferentes, terrestre y acuático. Este ecotono litoral de lagos y ríos presenta gradientes y funciona como zona buffer (Polunin, 1984; Jorgensen & Loffler, 1990; Wetzel, 1990). Tienen una importancia muy grande para todo el ecosistema lacustre, por la generación de materia orgánica disuelta y detritus (Godshalk & Wetzel, 1977). La cantidad de materia orgánica producida en la zona litoral supera ampliamente el aporte del fitoplancton en los ambientes someros y también a escala mundial (Wetzel, 1990).

Margalef (1983) denomina vía del detritus a la descomposición paulatina de la materia orgánica a medida que circula de unos lugares a otros. El transporte a través del detritus se produce especialmente en la frontera entre ecosistemas, tierra/mar, tierra/lago y a lo largo de los ríos. El anillo de

macrofitas actúa como filtro y sumidero de nutrientes impidiendo que pasen desde el ecosistema terrestre a la zona pelágica (Wetzel, 1990 b; Guillizzoni & Galanti, 1989), excepto en momentos de grandes avenidas, en que se sobrepasa la barrera de macrofitas. También se ha comprobado una función de trampa de detritus y de arcillas, muy importante cuantitativamente en algunos ambientes de llanuras de inundación (Poi de Neif *et al.*, 1994). El funcionamiento de los humedales marginales de los ríos ha sido objeto de un programa exhaustivo de investigación llevado a cabo recientemente por la Unión Europea (Matlby *et al.*, 1996), en el que, con un criterio novedoso definieron como **unidades hidrogeomórficas** ciertas áreas de geomorfología, hidrología/hidrogeología, y suelos homogéneos bajo condiciones normales. En ellas estudiaron en forma integrada, y orientada a la gestión, procesos hidrogeomórficos, biogeoquímicos, ecológicos y de impacto antrópico.

3. LAS MACROFITAS.

Las macrofitas emergentes se encuentran exclusivamente en el litoral de lagos, lagunas y ríos, incluso más allá del perímetro cubierto permanentemente por las aguas. Los patrones de senescencia varían de especie en especie.

Debido a diversos procesos fisiológicos que les permiten la reutilización del dióxido de carbono de la respiración y a su adaptación a suelos/fondos anaerobios, las macrofitas emergentes crecen sin competidores, y sin limitación por nutrientes o turbidez, por lo que constituyen una de las comunidades más productivas de la tierra (Wetzel, 1990 b). Para contrarrestar el efecto del viento y del oleaje, estas plantas han desarrollado una gran cantidad de material estructural, que es de difícil asimilación. Por tal motivo sólo un 20 % de su biomasa es aprovechable por los herbívoros, pocas veces como alimento, las más, en la construcción de refugios (Polunin, 1984). Estas moléculas, lignina, celulosa y hemicelulosa, construidas para dar resistencia, por la misma razón son refractarias a la acción de los microorganismos y por lo tanto muy difíciles de descomponer. Sólo unos pocos microorganismos han desarrollado evolutivamente el juego, de enzimas necesario para ello.

En las regiones templadas las macrofitas emergentes y también los árboles de hojas deciduas y las hierbas, entran en dormancia o senescencia y mueren en el otoño. Antes de la senescencia se produce una translocación de nutrientes desde las hojas y tallos hacia las raíces o rizomas, siendo este un factor adicional que contribuye al elevado porcentaje de compuestos estructurales, no nutritivos, en las

plantas senescentes o muertas (Magee, 1993).

4. UTILIZACION POR MACROHETEROTROFOS.

En los ambientes lénticos los invertebrados consumen menos del 1 % de la biomasa de macrofitas, pero la dañan mucho en proporción. La macrofitia no es palatable hasta tanto no está acondicionada por microorganismos. Los áfidos pueden provocar la pérdida de materia orgánica e iones por lixiviación. La tucura *Cornops acuaticum* y los curculiónidos acuáticos *Neochetina bruchi* y *N. eichorniae* deterioran las hojas de *Eichornia crassipes* en el Paraná; y en las macrofitas emergentes, se encontraron larvas de gorgojos que excavan galerías (Poi de Neiff, 1995). En estos casos y similares, el monto del material destruido puede superar lo consumido (Pieczynska, 1990). La utilización por los macroinvertebrados parece ser más importante en los ambientes lóticos. La rata almizclera utiliza macrofitas en la construcción de sus refugios. Las carpas herbívoras pastorean sobre macrofitas (Magee, 1993). El coipo, *Miocastor coypus*, (mal llamado nutria) se alimenta de macrofitas emergentes.

5. LOS MICROHETEROTROFOS.

Los hongos acuáticos pueden ser

ficomicetes, hifomicetes o *fungi imperfecti*, ascomicetes y basidiomicetes. Probablemente los ficomicetes sean el grupo más adaptado al medio líquido, por sus propágulos flagelados, y el más conspicuo. Entre estos, los Chytridiales son los más frecuentes en las aguas dulces. Sin embargo, con relación a la colonización de hojas de plantas deciduas y macrofitia, el grupo más importante son los hifomicetes (Margalef, 1983; Cole, 1988; Gessner & Schwoerbel, 1991). Los hifomicetes poseen un micelio septado que generalmente se encuentra en el interior del tejido vegetal en descomposición. Los conidios, estructuras reproductivas, son filamentosos que se forman sobre un conidióforo, sobre hifas o agregaciones hifales en el exterior del tejido atacado (Margalef, 1983; Godeas, 1995). Existen dos grupos de hifomicetes, los acuáticos y los aeroacuáticos. Los hifomicetes acuáticos se encuentran en arroyos turbulentos y lagos bien aireados. Forman conidióforos debajo del agua y todo su ciclo de vida se realiza sumergido. Presentan en su mayoría conidios ramificados. Los hifomicetes aeroacuáticos crecen sobre material vegetal en descomposición en zonas poco oxigenadas. Solo esporulan cuando se exponen al aire formando propágulos de dispersión aérea, impermeables y flotantes. Una forma de propágulo frecuente es la espiralada, que

atrapa una burbuja de aire en sus giros y hace que el propágulo flote; se los encuentra frecuentemente en espumas y resacas (Godeas, 1995).

La importancia de los hongos y bacterias en los ecosistemas acuáticos reside en que son los únicos organismos que pueden desdoblar moléculas refractarias. Muchos hongos tienen la maquinaria bioquímica para hidrolizar las unidades de sucrosa de la celulosa (enlaces β -1,4) en fructosa y glucosa. Además de celulosa, pueden despolimerizar xilano y pectina (Rheinheimer, 1987; Magee, 1993). Algunas especies tienen actividad lignolítica. Poseen así el monopolio de una enorme fuente de energía, no utilizable por los macroheterótrofos. De esta forma, los hongos, en conjunción con las bacterias cumplen una función muy importante, que es devolver al ambiente acuático la energía almacenada en moléculas resistentes de la macrofitia. También abren el ambiente acuático al flujo de energía proveniente del ecosistema terrestre en forma de hojarasca y restos vegetales (Margalef, 1983).

6. DESCOMPOSICION DE LA BROZA.

La gran productividad de los humedales y zonas litorales, no es aprovechable por pastoreo directo sino en un porcentaje pequeño;

por el contrario, la mayor parte de dicha producción se hace utilizable para el resto del ecosistema como MOD o MOP trabajada por los microheterótrofos, al menos en sus fases iniciales (Polunin, 1984; Pieczynska, 1990). Esta es una constante tanto para los ambientes costeros marinos como los litorales en aguas dulces. La liberación de sustancias orgánicas se produce durante toda la vida del macrofito, pero aumenta con la senescencia y más aún con la muerte del organismo (Mann, 1972). Esta materia orgánica es colonizada por las bacterias, y ambas, partículas y bacterias, constituyen el detritus.

La degradación de las macrofitas es un fenómeno complejo, en el que interactúan procesos físicos, químicos y biológicos. Los compuestos orgánicos se transforman en compuestos sucesivamente más sencillos, hasta su mineralización más o menos completa (Magee, 1993).

La tasa de descomposición (k) se estima en forma global como pérdida de peso seco de la broza en función del tiempo. Este método, si bien da una idea de la duración del proceso según el tipo de sustrato y condiciones ambientales, no permite explicar los pasos intermedios y las sucesiones de microorganismos que los producen, sino que considera el fenómeno como una caja negra. Este procedimiento, aunque resulta económico, pueden producir

resultados diferentes a los que se observan en condiciones naturales (Margalef, 1983). Una objeción similar se hace al método de estudiar las colonizaciones por hongos y bacterias mediante sustratos artificiales. Existe cierta confusión en las metodologías empleadas, en cuanto algunos autores estiman el coeficiente k , incluyendo el proceso de lixiviación, mientras que otros solamente consideran las pérdidas a partir de la colonización por microorganismos. Tóth & Zlinszky (1989) comprobaron que el sistema respiratorio de transporte de electrones continúa activo durante un cierto tiempo después de la muerte del organismo y por lo tanto también el ciclo de Krebs, que suministra las coenzimas. Ello indica que una parte importante de los procesos de descomposición se debe a auto-oxidación de la materia orgánica.

6.1. Lixiviación.

La descomposición de las macrofitas comienza por un proceso de lixiviación, que implica arrastre y disolución de iones, nutrientes y materia orgánica soluble en agua. Se trata de un fenómeno puramente físico y tiene lugar aún cuando se suprime experimentalmente la actividad microbiana con Cl_2Hg o azida sódica (Polunin, 1984). Los cambios ocurren muy rápidamente después de la muerte de las plan-

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

tas y se han registrado porcentajes de pérdida, muy elevados en sólo 48 hs después de una inundación (Polunin, 1984; Magee, 1993). El mismo efecto se ha observado para el carbono orgánico disuelto (Brinson, 1977).

La información respecto de los iones más arrastrables por lixiviación no siempre es coincidente; la velocidad de lixiviación depende de la especie en descomposición y de las condiciones del medio, por lo que no puede esperarse siempre resultados similares. En términos generales se acepta que los iones monovalentes (Tabla 1) se movilizan más rápidamente que los bivalentes y que, en el caso del N, Fe y a veces Ca, en lugar de pérdida puede producirse acumulación.

Cuando se acumulan calcio y nitrógeno, normalmente se liberan lentamente en la segunda fase de la descomposición. Estos aumentos, debidos probablemente a la fijación microbiana de nitrógeno, no constituyen lixiviación. El fósforo se lava bastante rápidamente en las etapas iniciales aunque existen datos que contradicen esta afirmación (Polunin, 1984; Magee, 1993). Algunos fenoles solubles (fenoles hidroxilados) se pierden en pocos días. Sin embargo la mayor parte de los fenoles (polifenoles) aumenta en proporción (Brinson, 1977).

Tabla 1: Velocidad relativa de lixiviación de iones en diferentes tipos de broza.

Iones lixiviables	Sustrato	Referencia
K > Mg > N > Ca > P > Fe	veget. terrestre (hojas)	Brinson (1977)
K > Na > Mg > Ca > Al y Fe	patrón más aproximable	Polunin (1984)
K > otros iones	<i>Eichornia crassipes</i> (hojas)	Kieffer & Lallana (1987)
Ca > K > N > Mg > Na > P	<i>Tessaria integrifolia</i> (hojas)	Neiff & Poi de Neiff (1990)
K > Na > Ca > Mg	tatora	Magee (1993)

6.2. Colonización.

La susceptibilidad al ataque por organismos patógenos, algas, hongos, bacterias y virus, es menor en las plantas jóvenes. La cantidad y la diversidad de estos microorganismos generalmente se incrementa con la edad de la planta huésped, principalmente debido a que aumenta la excreción de materia orgánica por la planta senescente (Rejmankova, 1989). Según el grado de transformación, se puede diferenciar un detritus "joven" en el que es posible identificar la naturaleza de sus componentes (fragmentos de algas, animales y macrofitas) y un detritus "maduro" en el que se hace muy difícil determinar su origen (Rodina, 1967; según Olah, 1972). En *Phragmites* el número de bacterias aumenta mucho cuando la planta cae y se moja; el pico se alcanza a los 4-6 días y queda estacionario durante unos 20 días, verificándose un segundo pico a los 25 días. El papel de las bacterias en la descomposición de las macrofitas emergentes se ha estudiado menos que el de los hongos. En *Phragmites* se ha demostrado una sucesión de formas bacterianas (Olah, 1972). El número de bacterias en la broza oscila entre 410.000 y 410.000.000 individuos cm^{-2} (Magee, 1993). El rol de las bacterias parece ser más importante en los estadios avanzados de descomposición que en los

iniciales. Así en el detritus maduro siempre encontramos la partícula orgánica rodeada de una película de bacterias.

La mineralización y reutilización de la macrofitia se produce por una combinación de pasos mecánicos y biológicos que conducen a una fragmentación progresiva del material muerto (Fig. 1). La fragmentación mecánica por acción del viento, el oleaje y el hielo, es sin duda importante en las macrofitas emergentes (Magee, 1933). Los macroinvertebrados contribuyen también a la fragmentación pero no lo hacen sino después de un período inicial de colonización por microorganismos, llamado también período de acondicionamiento. La MOPF producida por los trituradores es colonizada nuevamente por microbios antes de ser consumida por los colectores (Fig. 1). Luego de la colonización inicial, los raspadores dejan el sustrato descubierto para una nueva colonización por microorganismos.

Algunos animales del bentos tienen bacterias endosimbiontes con actividad celulolítica, por lo que funcionan a modo de rumiantes acuáticos (Cummings & Klug, 1979). Las bacterias y hongos actúan como mediadores obligados en la transferencia de energía entre la macrofitia en decaimiento y el bentos.

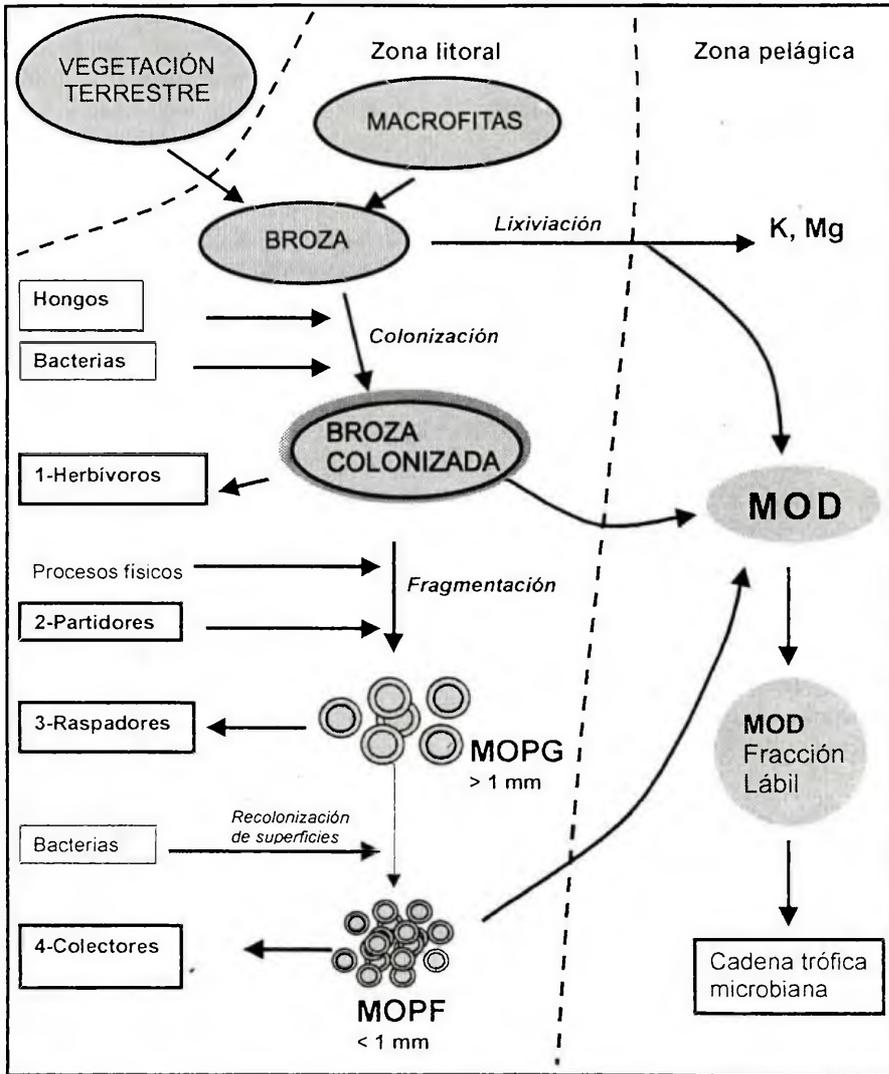


Figura 1: Síntesis sobre los procesos de descomposición de las macrofitas y vegetales terrestres. Algunas formas de utilización de los productos en el bentos y en el plancton.

6.2.1. Colonización por hongos.

A medida que la planta envejece aumenta el número de especies de hongos que la parasitan (Polunin, 1984). Algunos autores identifican dos estadios en la colonización de *Phragmites* por hongos. La primera fase se caracteriza por la presencia de formas picnidiales, *Diplodina*, y por la persistencia de hifomicetes y ascomicetes aéreos. En la segunda fase declina *Diplodina* e incrementa *Leptophaeria culmifraga*, un microhongo. El material es entonces colonizado por ascomicetes, Sphaeropsidales e hifomicetes. En *Typha latifolia*, dominan en los últimos estadios los hongos nematófagos (Polunin, 1984).

Se postula una alta especificidad hongo-sustrato, en modo tal que cada etapa de una secuencia de descomposición estaría controlada por una especie de hongo diferente. Este es un campo de investigación relativamente reciente y en el medio acuático se conocen muy pocos trabajos al respecto. Bergbauer & Newell (1992) estudiaron la degradación de la lignocelulosa en *Carex walteriana* y *Spartina alterniflora*, encontrando por lo menos cinco hongos aero-acuáticos creciendo sobre *C. walteriana*, entre los cuales *Spirosphaera floriformis* fue la cepa más activa en la mineralización de lignina y polisacáridos. Sin embargo el porcentaje de

material mineralizado en cultivos mixtos no superó el 4 % para la lignina y el 20 % para los polisacáridos. En cultivos puros, en cambio los porcentajes fueron mayores, hecho que indica la posible producción de compuestos antimicrobianos en el medio natural (Bergbauer *et al.*, 1992). Los patrones sucesionales podrían explicarse también por interacciones (inhibición) entre especies descomponedoras. *S. floriformis* degradó más rápidamente el ácido ferúlico que el ácido p-coumárico, lo que condujo a una disminución de las razones cinamil/vanillil (C/V) y siringil/vanillil (S/V). *Phaeosphaeria spartinicola* es un ascomicete que degrada la lignocelulosa de *Spartina alterniflora* (Bergbauer & Newell, 1992 a). Como sustrato utiliza preferencialmente los fenoles cinamílicos (ácidos p-coumárico y ferúlico) en lugar de los fenoles vanilílicos. Las razones C/V y S/N variaron según el origen del material. Gessner & Schwoerbel (1991), mediante el dosaje de ergosterol, un compuesto exclusivo del reino Fungi, estimaron la biomasa de cinco especies de hifomicetes acuáticos asociados a la hojarasca en descomposición. La eficiencia de crecimiento fúngico, como cociente entre la producción neta de micelio y la pérdida de biomasa de hojas, llegó hasta el 10,5 % durante el período de máxima actividad (entre los días 7 y 28 de la incubación).

En *Phragmites australis*,

hongos y bacterias tienen igual importancia al final del primer mes, pero en los primeros cuatro meses son más importantes las bacterias que los hongos (Olah, 1972). Puede generalizarse entonces, que los hongos son más importantes al principio del proceso de descomposición.

6.2.2. Tasa de descomposición según el origen de la broza.

El tiempo que duran los procesos de descomposición es muy variable y depende del tipo de material y de las condiciones ambientales. La vegetación herbácea tiene muchos nutrientes, poca fibra y se descompone no bien entra al sistema. Las hojas de arbustos deciduos, tienen elevada cantidad de fibra; requieren un período de acondicionamiento y se procesan en 60-90 días. Las hojas de árboles deciduos, tienen elevada cantidad de fibra; requieren período de acondicionamiento y se procesan en un año. Las agujas de pino son mucho más refractarias; requieren un período de acondicionamiento largo y se procesan en más de un año. La madera es altamente refractaria por lo que requiere períodos de acondicionamiento muy largos. Se procesa en décadas o centurias. La madera en el ecosistema representa una reserva de energía y nutrientes a largo plazo (J. Ward, com. pers.). Las macrofitas se procesan rápido

y pueden perder la mitad de su peso en un mes (Margalef, 1983); aunque entre éstas también existen diferencias, ya que *Eichornia* y *Salvinia* se descomponen más lentamente que *Najas* e *Hydrilla* (Olah *et al.*, 1987).

El contenido alto de nitrógeno hace más palatables a las plantas y por lo tanto se degradan más rápidamente. *Phalaris*, macrofita emergente se degrada en un año, mientras que *Myriophyllum* y *Ranunculus*, recién en el otoño o invierno siguientes (Chauvet, 1994). *Phragmites* es una macrofita del hemisferio norte cuyo rol ecológico es equivalente al de *Schoenoplectus*. Incubada *in vitro* en forma pulverizada, Olah (1972) diferenció tres etapas en la formación del detritus. En aerobiosis, el detritus maduro se forma en unos 30 días. Esta fase de condicionamiento es muy variable. Para macrófitos sumergidos se estimó en 43 días y de 90 a 160 días para la broza de origen terrestre (Hill & Webster, 1982).

Entre otros factores intrínsecos que incrementan el coeficiente de decaimiento pueden mencionarse el contenido bajo de lignina, polifenoles y ácido tánico, el contenido alto de P y N, las relaciones C/N y C/P bajas y las relaciones madera/hoja bajas (Barbosa *et al.*, 1982; Reddy & De Busk, 1991; Magee, 1993; Poi de Neiff, 1995).

6.3. Factores ambientales.

6.3.1. Presencia o ausencia de agua.

En seco, el decaimiento es mucho más lento o no se produce (Zozaya & Neiff, 1991). Brinson (1977) encontró que la tasa de descomposición en brozas de origen terrestre aumentaba según el grado de humectación (mayor o menor alejamiento del cauce principal; períodos de aguas altas o de aguas bajas). La presencia de agua es muy importante; todos los nutrientes lábiles pueden arrastrarse en unos pocos días al comienzo de una inundación (Magee, 1993).

En los períodos de extrema sequía es el fuego, natural o intencional, el principal factor de degradación y oxidación del material muerto. La perdurabilidad de las macrofitas emergentes hace que tengan utilidad en construcción de viviendas, sillas, cestas, etc., siendo extraídas en este caso del ecosistema.

6.3.2. Temperatura.

Entre las condiciones ambientales los efectos de la temperatura son predecibles fácilmente, tal que se puede estimar k (coeficiente de decaimiento) = $0,0025 T$ (Margalef, 1983). Por esta razón la materia orgánica tiende a acumularse en las regiones frías, formándose mallines y turberas.

Probablemente los hongos jueguen allí un papel más importante que en las regiones tropicales en las que es más probable que todo el material orgánico de la broza se oxide a CO_2 (Magee, 1993).

6.3.3. Contenido de oxígeno.

Está comprobado en muchos trabajos (Poi de Neiff, 1991; Reddy & DeBusk, 1991) que la buena oxigenación acelera los procesos de colonización y degradación de la broza. En las aguas bien oxigenadas, los microorganismos anaerobios facultativos no necesitan recurrir al sulfato y al nitrato como aceptores de electrones y por lo tanto no se forman productos tóxicos como el SH_2 . Mientras la temperatura es el factor más importante implicado en la conversión $MOP \Rightarrow MOD$, el oxígeno disuelto lo es en la conversión $MOD \Rightarrow CO_2$ (Pieczynska, 1990).

6.3.4. pH.

Numerosos trabajos sintetizados en Overrein *et al.* (1980) y Hendrey (1982), han demostrado que la acidificación inhibe la descomposición microbiana y conduce a la acumulación de material vegetal, autóctono o alóctono. En estudios de laboratorio a pH 4 la descomposición de diferentes sustratos es mucho más lenta que a pH 7. La acidificación, además de bloquear la

descomposición del material orgánico, modifica la flora microbiana, favoreciendo el desarrollo de hongos e inhibiendo el de bacterias y zooflagelados. También en condiciones de campo se verificaron densas colonizaciones por basidiomicetes (600 colonias por cm^{-2}). Si bien a pH bajo se reduce la tasa respiratoria, las acumulaciones de hifas fúngicas son tan densas que conducen a la depleción del oxígeno. La permanencia de las condiciones de pH bajo conduce entonces a la acumulación de la materia orgánica y a la distrofia (Hendrey, 1982) y al reemplazo de especies como *Isoetes* y *Lobelia* por *Sphagnum* (Overrein *et al.*, 1980). Estos procesos evidenciados a escala ecosistémica se explican por mecanismos a escala molecular. El complejo de enzimas del sistema respiratorio de transporte de electrones (ETS) aumenta 2-3 veces la velocidad de oxidación por cada unidad de incremento de pH (Tóth & Zlinszky, 1989). Las paredes celulares de las bacterias son permeables al ión H^+ y hasta cierto límite pueden bombearlo hacia afuera, con gasto extra de energía.

6.3.5. Velocidad de la corriente.

Chergui & Patee (1990) evidenciaron que la colonización por hongos e invertebrados es más rápida en el canal principal de

un río, algo más lenta en un brazo lateral abierto y más lenta aún en un brazo lateral cerrado, donde se acumula materia orgánica y se genera hipoxia. Resultados concordantes se obtuvieron en el río Paraná (Hammerly *et al.*, 1989), quienes demostraron en tres sustratos, *Panicum*, *Paspalum* y *Eichornia crassipes* que el tiempo requerido para que se descomponga el 50 % del material cambia de 20 a 10 días cuando la velocidad de la corriente pasa de 0,03 a $0,6 \text{ m s}^{-1}$.

6.3.6. Colonización y estado trófico.

Voronin (1992, 1993) estudió los hongos que crecen sobre brozas de origen diferente en pequeños lagos de Estonia y Karelia (Rusia), demostrando la existencia de grupos ecológicos que forman complejos pioneros sobre los vegetales muertos. La composición de estos complejos varía según el estado trófico del lago. Los ascomicetes e hifomicetes acuáticos abundan en los lagos ultraoligotróficos, oligotróficos y distróficos mientras que desaparecen en las aguas más mineralizadas y de mayor trofia. En los lagos mesotróficos no encontraron ascomicetes probablemente debido a que también están ausentes en los restos de vegetación terrestre. En cultivos de hojas de vegetación terrestre y macrofitas muertas de 13 lagos de Karelia,

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

este autor encontró 36 especies de hongos diferentes, predominando los hifomicetes. Sobre broza de pino frecuentemente no crecían hongos; o se veían micelios, pero no conidios. Uno de los complejos pioneros descritos en lagos oligotróficos está constituido por la microsucesión *Cladosporium herbarum* \Rightarrow *C. cladosporioides* \Rightarrow *C. macrocarpum*. Voronin (1993) propuso en base a sus estudios un índice de eutrofización basado en la estructura de los complejos fúngicos pioneros en sustratos similares.

En cuanto a los efectos de la concentración de nutrientes sobre la tasa de descomposición de las macrofitas, los resultados no son uniformes. Howard-Williams *et al.* (1989) comprobaron aumentos en la tasa de descomposición al aumentar la concentración de nutrientes, mientras Villar *et al.* (1997) no encontraron relación alguna.

7. CICLO DE LAS SUBSTANCIAS HUMICAS.

La descomposición de las macrofitas en el ambiente acuático es la fuente principal de detritus y sustancias orgánicas como la celulosa, hemicelulosa, pectina, xilano y lignina, las que constituyen las moléculas naturales más resistentes a la descomposición. La lignina, polímero de fenoles, se transforma en una variedad de

fenoles simples, muchos con grupos ácidos (ácido ferúlico, *p*-coumárico) y otros sin ellos (cinamina, vanillina, siringina). Los ácidos ferúlico y *p*-coumárico se encuentran entre las formas más simples y son precursores de otras moléculas. Por condensación forman los ácidos fúlvicos y húmicos. Estos ácidos, pueden reaccionar químicamente con azúcares y aminoácidos (reacción de Maillard), con lo cual se incorpora nitrógeno a la cadena alifática. Sólo en esta forma son accesibles como fuente energética para los microorganismos (Conzonno, com. pers.). En muchos sistemas, los ácidos orgánicos y polifenoles constituyen la mayor reserva de materia orgánica, superando a MOP en un orden de magnitud. Si bien estas sustancias se descomponen muy lentamente (alrededor de 1% por día) constituyen el mayor medio de disipación de energía del ecosistema y se hipotetizan para ellas importantes funciones regulatorias (Godshalk & Wetzel, 1977; Wetzel, 1990).

8. RELACIONES LITORAL-PELAGIAL.

Numerosos trabajos de Wetzel (1990 a y b) pusieron en evidencia complicados mecanismos de interacción macrofitas-perifiton, por los cuales la mayor parte de los nutrientes perdidos por las macrofitas son atrapados por el

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

perifiton, de modo tal que el cambio neto es siempre un incremento de nutrientes en la zona litoral, con poca o ninguna pérdida hacia el pelagial (Pieczynska, 1990). Guillizzoni & Galanti (1989) utilizaron el raleo de macrofitas (*Phragmites*, emergente, y *Trappa*, flotante), para optimizar el funcionamiento del "cañaveral" como sumidero de nutrientes. El exceso de nutrientes produce plantas muy apretadas entre sí, disminuye la circulación de agua, se crean condiciones de anoxia y de toxicidad por SH_2 , y las plantas se hacen más débiles. La cosecha contribuye a mantener las plantas en buen estado y a la vez extraer parte del exceso de nutrientes, evitando que lleguen al cuerpo principal del lago Maggiore. La zona litoral también podría influir en el pelagial en algunos ambientes a través del detrito sestónico, como buffer de fósforo (Rijkeboer *et al.*, 1991). Prabhakaran *et al.* (1987) señalan que los hongos liberan del material en descomposición compuestos insolubles de fósforo haciéndolos así disponibles para otros organismos. El funcionamiento de la zona litoral y sus influencias sobre el pelagial no son sencillas, de allí que el modelado se encuentre en sus fases iniciales (Jorgensen, 1990).

Además de los procesos de difusión, existe un verdadero transporte de material vegetal a distancias aún muy grandes de su

origen. Este transporte en masa, de macrofitas o de floraciones de cianobacterias, ha sido documentado en muchos tipos de ecosistemas. Ochiai & Nakajima (1994), señalan que la descomposición de *Elodea* en el lago Biwa (Japón), devuelve nutrientes al medio, provocando procesos de eutrofización localizados en aquellas bahías donde, por acción del viento, se acumulan las plantas muertas. Bonetto (1975) evidenció la liberación de los embalsados desde lagunas laterales hacia el cauce principal del río Paraná y su transporte por cientos de kilómetros. La mayor parte de la biomasa de peces de la cuenca del Plata, eminentemente detritívoro-iliófaga, se sustenta en gran medida en la productividad de los ambientes del valle de inundación del Paraná (Quirós & Baigún, 1985).

En la Figura 1 se sintetizan algunas de las interacciones litoral-pelagial. El complejo litoral-humedal es la mayor fuente de materia orgánica para muchos ecosistemas acuáticos. Una gran parte de la MOP se descompone en la interfase litoral-pelagial, y es aprovechada en parte por los macroinvertebrados. La exportación de materia orgánica hacia el pelagial se produce principalmente como MOD, compuesta en gran parte por productos recalcitantes. Pero no toda la MOD es refractaria. La celulosa, polímero de sacarosa, se desdobra en fructosa y glucosa, moléculas que se utili-

zan inmediatamente, en parte por bacterias, y en parte por protistas, zooplancton y macroinvertebrados (Magee, 1993).

Los oceanógrafos demostraron la existencia de una cadena trófica compuesta por bacterias \Rightarrow flagelados \Rightarrow microzooplankton, que se denominó ciclo microbiano (Azam *et al.*, 1990) y que se mantiene sobre el flujo de MOD liberado principalmente por las microalgas y el zooplancton (Berman, 1990). Su presencia e importancia (puede aportar hasta más del 50 % de la producción anual de carbono) se acepta en lagos y océanos, independientemente de su estado trófico (Weise & Stockner, 1993). Es inevitable entonces aceptar que la MOD liberada desde la zonal litoral modificará la red trófica pelágica, suministrando MOD extra para el ciclo microbiano (*sensu* Azam). Dependiendo de la relación de áreas litoral/pelagial esta vía puede llegar a ser más importante (y aún dominante) que la vía fotosintética en la elaboración de nueva materia orgánica, por lo menos durante algunos períodos del año.

Otra vía metabólica que puede utilizar la MOD en el pelagial, es la de los organismos mixotrofos (Berman, 1990), entre otros, las cianobacterias, que tienen la capacidad de asimilar compuestos orgánicos en forma heterotrófica (Fogg *et al.*, 1973).

9. LAS MACROFITAS EN LAS LAGUNAS DEL ECOTONO MESETA-ANDES PATAGONICOS.

Los ambientes lénticos del ecotono meseta-cordillera tienen particular interés en relación con los temas discutidos en esta revisión. Ubicados entre las isohietas de 400 y 700 mm, independientemente de su denominación vulgar, pueden tipificarse como lagunas y presentan un conjunto de características limnológicas que los diferencian notoriamente de los lagos cordilleranos y de las lagunas de mayor salinidad ubicadas en la meseta. Presentan una zona litoral bien desarrollada con un anillo más o menos completo de *Schoenoplectus californicus* (Fig. 2), refugio de una avifauna variada y abundante. Entre el anillo de juncos y la costa suele observarse una faja de aguas someras, y en la costa, puede aparecer *Salix fragilis* (Fig. 2). Más allá del litoral, se diferencia también un humedal de dimensiones muy variables, utilizado antrópicamente para el engorde de ganado, principalmente bovino (Fig. 3). Su profundidad y la intensidad de los vientos dominantes, hacen de ellas ambientes polimícticos, con congelamiento superficial durante los inviernos muy rígidos (Pizzolon *et al.*, 1990). En muchas de estas lagunas se ha documentado la dominancia de cianobacterias y la

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.



Figura 2: Zona litoral de la laguna Willimanco con *Schoenoplectus californicus* en primer plano y *Salix nigra* al fondo (octubre 1995).



Figura 3: Humedal y canal de salida de la laguna Willimanco.

producción del máximo de densidad poblacional en primavera (Pedrozo *et al.*, 1991; Pizzolon *et al.*, 1993; Pizzolon & Hechem, 1994). Las predicciones del modelo PEG de sucesión planctónica, establecen que los picos de cianobacterias son esperables a fines de verano-otoño (Sommer, 1989). Probablemente la discrepancia entre los hechos encontrados y la teoría pueda explicarse por la capacidad de asimilación heterotrófica de las cianobacterias (Fogg, 1972), las que, entre otros factores, se verían favorecidas por los pulsos de MOD litoral.

El litoral, y en algunos casos el humedal, de la mayor parte de los ambientes pampásicos (Pastore, 1991) y del ecotono meseta-cordillera, en Patagonia, se caracterizan por la presencia de tres subespecies de *Schoenoplectus californicus*, como vegetación dominante. Sin embargo su biomasa y productividad no se conoce en Argentina (Pastore, 1991) y menos aún los procesos, organismos involucrados y tiempos de degradación. Algunas observaciones ocasionales, proporcionaron una evidencia inicial de la importancia de la colonización fúngica sobre las partes sumergidas de *Schoenoplectus* y otras macrofitas (Fig. 4 y 5). Muchas plantas, debilitadas por el ataque fúngico o por el hielo, se quiebran a nivel de la superficie del agua posibilitando así la colonización de la parte emergente

(Fig. 5). Se observaron masas de hifas desprendidas flotando en las aguas libres (Fig. 6). También durante el período de primavera se detectaron grandes manchas refringentes (de 30 a 50 metros aproximadamente), derivando hacia las orillas por acción del viento. Estas manchas indicarían la existencia de materia orgánica, que tiene la propiedad de alterar la tensión superficial del agua (Margalef, 1983). Estas observaciones esporádicas, indicarían que en primavera el pelagial está sujeto a una entrada muy importante de MOD y MOP desde el litoral, cuya influencia en la red trófica pelágica no ha sido estudiada.

Recientemente se determinó una especie nueva de Agaricales, *Goioccephala aquatica*, colonizando tempranamente la parte sumergida de *S. californicus* en varias lagunas del ecotono meseta-cordillera en Patagonia (Desjardin *et al.*, 1995). Aparentemente es el único basidiomicete conocido que presenta esporulación acuática, el cual evidencia además, actividad lignolítica (Rajchemberg, com. pers.). Este hallazgo y los trabajos de Voronin en la zona boreal, sugieren la existencia en estas lagunas de una gran biodiversidad a nivel de hongos, aún por conocer.

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.



Figura 4: Hifas fúngicas creciendo sobre *Schoenoplectus californicus* (laguna Willimanco, octubre de 1995).



Figura 5: Otros aspectos de la colonización por microorganismos y epífitas.



Figura 6: Hifas desprendidas y arrastradas por el viento en las aguas abiertas (laguna Willimanco, octubre de 1995).

10. CONCLUSIONES.

La descomposición de las macrofitas y de restos de vegetación terrestre en los ambientes acuáticos es fuente de materia orgánica particulada y disuelta. La fracción disuelta refractaria tiene gran permanencia en el tiempo y múltiples influencias a distancia del sitio de producción. La fracción disuelta lábil está disponible para su uso a través del ciclo microbiano o de los organismos mixotróficos. La fracción particulada se utiliza también a través de la vía del detritus, suministrando energía para el mantenimiento de redes tróficas bentónicas.

Los conceptos presentados tienen especial interés por su aplicación en ambientes del tipo de las lagunas del ecotono meseta-cordillera de los Andes. Estos ambientes presentan características limnológicas muy particulares que los diferencian de otros sistemas de morfometría similar en el hemisferio norte. No obstante su interés teórico y aplicado a problemas de calidad de aguas y de productividad pesquera, no se han realizado estudios sobre el papel que juegan las macrofitas en ellos. Un campo de investigación particularmente inexplorado en Patagonia, es el de los hongos acuáticos que intermedian en los

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

procesos de descomposición y cuya biodiversidad, funciones y características ecológicas se desconocen casi por completo.

BIBLIOGRAFIA

- Azam, F., Cho, B. C., Smith, D. C. & Simon, M. 1990. Bacterial cycling of matter in the pelagic zone of aquatic ecosystems. En M. M. Tilzer & C. Serruya (eds), Large Lakes. Ecological structure and function. Springer Verlag, Berlin: 477-203.
- Barbosa, F. A. R., Esteves, F. A. & Tundisi, J. G. 1982. Limnological studies at Eastern Brazil (Rio Doce Valley). II. Chemical composition and nutritional quality of the forest litter. Trop. Ecol., 23 (1): 155-164.
- Bergbauer, M. & Newell, S. Y. 1992. Contribution to lignocellulose degradation and DOC formation from a salt marsh macrophyte by the ascomicete *Phaeosphaeria spartinicola*. Fems. Microbiol. Ecol., 86 (4): 341-348
- Bergbauer, M., Moran, M. A. & Hodson, R. E. 1992. Decomposition of lignocellulose from a freshwater macrophyte by aero-aquatic fungi. Microbiol. Ecol., 23 (2): 159-167.
- Berman, T. 1990. Microbial food-webs and nutrient cycling in lakes: changes perspectives. En M. M. Tilzer & C. Serruya (eds), Large Lakes. Ecological structure and function. Springer Verlag, Berlin: 511-525.
- Brinson, M. K. 1977. Decomposition and nutrient exchange of litter in an alluvial swamp forest. Ecology, 58: 601 - 609.
- Bonetto, A. 1975. Landscapes of river basins (South America). En A. H. Hasler (ed.), Coupling of land and water systems. Ecological Studies 10, Springer Verlag, Berlin: 173-213.
- Cabrera, A. 1964. Las Plantas Acuáticas. EUDEBA, Buenos Aires, 93 pp.
- Chauvet, E. 1994. Production and decomposition of aquatic macrophytes in the River Garone. Verh. internat. Verein. Limnol., 25: 2305-2308.
- Cole, G. A. 1988. Manual de Limnología. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, 405 pp.
- Correa, M. N. 1969. Flora patagónica. Parte II: Typhaceae a Orchidaceae (excepto Gramineae). INTA, Buenos Aires, 219 pp.
- Cummings, K. W. & Klug, M. J. 1979. Feeding ecology of stream invertebrates. Ann. Rev. Ecol. Syst., 10: 147-72
- Desjardin, D. E., Martínez-Peck, L. & Rajchemberg, M. 1995. An unusual psychrophilic aquatic agaric from Argentina. Mycologia, 87 (4): 547-550.
- Dillon, P. J. & Rigler, H. H. 1974. The phosphorus-chlorophyll relationships in lakes. Limnol. Oceanogr., 19: 767-773.
- Fogg, G. E., Stewart, W. D. P., Fay, P. & Waslby, A. E. 1973. The blue-green algae. Academic Press. Londres, 435 pp.
- Forbes, S. A. 1887. The lake as a microcosm. Bull. Peoria Scient. Ass.: 77-87.
- Gessner, M. O. & Schwoerbel, J. 1991. Fungal biomass associated with decaying leaf litter in a stream. Oecologia, 87: 603-603.

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

- Godeas, A. M. Hyphomicetes. En G. Tell & E. Lopretto (eds), *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio*. Ediciones Sur, La Plata, 2: 497-509.
- Godshalk, G. L. & Wetzel, R. G. 1977. Decomposition of macrophytes and the metabolism of organic matter in sediments. En H. Golterman (ed.), *Interactions between sediments and freshwater*. Junk Publ., The Hague: 258-264.
- Guillizzoni, P & Galanti, G. 1989. Biomass, primary production and nutrient movements in the Fondotoce wetland (Pallanza Basin-Lago Maggiore). *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 46: 197-234.
- Hammerly, J., Leguizamón, M., Maine, M. M., Schiver, D. & Pizarro, M. 1989. Decomposition rate of plant material in the Paraná Medio River. *Hydrobiologia*, 183: 179-184.
- Hendrey, G. R. 1982. Effects of acidification on aquatic primary producers and decomposers. En T. A. Haines & R. E. Johnson (eds), *Acid rain/Fisheries. Proceed. Internat. Symp. on Acidic Precipitation and Fisheries Impacts in Northeastern North America*. Am. Fish Soc., Ithaca, New York: 125-135.
- Hill, B. H. & Webster, J.R. 1982. Aquatic macrophyte breakdown in an Appalachian river. *Hydrobiologia*, 89:53-59.
- Howard-Williams, C., Pickmere, S. & Davies, J. 1988. The effect of nutrients on aquatic plant decomposition rates. *Verh. int. verein. Limnol.*, 23: 1973-1978.
- Janus, L. L. & Vollenweider, R. A. 1981. Summary report. The O.E.C.D. cooperation programme on eutrophication. *Canadian Contribution Scientific Series 131*. National Water Research Institute. Canada Center for Inland Waters. Burlington, Ontario.
- Jorgensen, S. E. 1990. Quantification and modelling. En S. E. Jorgensen & H. Löffler (eds), *Guidelines of Lake Management*, 3: Lake shore management. *Internat. Lake Environm. Comm.*, Japón: 89-105.
- Lampert, W., Flechner, W., Rai, H. & Taylor, B. 1986. Phytoplankton control by grazing zooplankton: a study on the spring clear-water phase. *Limnol. Oceanogr.*, 31 (3): 478-490.
- Leach, J. H. & Herron, R. C. 1992. A review of Lake habitat classification of lakes. En W. D. N. Busch & P. G. Sly (eds), *The development of an aquatic habitat classification system for lakes*. C. R. C. Press, 215 pp.
- Likens, G. E. 1984. Beyond the shoreline: a watershed ecosystem approach. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 22: 1-22.
- Magee, P. A. 1993. Detrital accumulation and processing in wetlands. En *Waterfowl management handbook*. U. S. Fish & Wildlife Serv.: 1-7.
- Maltby, E., Hogan, D. & McInnes, R. J. (eds). 1996. Functional analysis of European wetland ecosystems. The function of river marginal wetland ecosystems. Final Rep. European Commission. ECSC-EC-EAEC, Bruselas. EUR 16132, 408 pp.
- Mann, K. H. 1969. The dynamics of aquatic ecosystem. *Adv. Ecol. Res.*, 6: 1-81.
- Margalef, R. 1983. *Limnología*. Omega, Barcelona, 1010 pp.

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

- Margalef, R. 1993. Teoría de los sistemas ecológicos. Publ. Universitat Barcelona, 2da. ed., 290 pp.
- Neiff, J. J. & Poi de Neiff, A. 1990. Litter fall, leaf decomposition and litter colonization of *Tessaria integrifolia* (Compositae) in the Parana River floodplain. *Hydrobiologia*, 203: 45-52.
- Nicholls, H. H. & Dillon, P. J. 1978. An evaluation of phosphorus-chlorophyll-phytoplankton relationships of lakes. *Int. Rev. Gesamen. Hydrobiol.*, 63: 141-154.
- Ochiai, M. & Nakajima, T. 1994. Decomposition of aquatic plant *Elodea nuttallii* from Lake Biwa. *Verh. int. verein. Limnol.*, 23: 1973-1978.
- Olah, J. 1972. Leaching, colonization and stabilization during detritus formation. En U. Melchiorri-Santolini & J. W. Hopton (eds), *Detritus and its role in aquatic ecosystems*. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 29 (Suppl.): 105-128.
- Olah, J., Sinha, V. R. P., Ayyappan, S., Purushothaman, C. S. & Redheysyam, C. S. 1987. Detritus associated respiration during macrophyte decomposition. *Arch. Hydrobiol.*, 111 (2): 309-315.
- Overrein, L. N., Seip, H. M. & Tollan, A. 1980. Acid precipitation - effects on forest and fish. Chapter 11: Effects of acid water on aquatic life. Final Report of the SNSF - Project 1972-1980, Oslo: 143-161.
- Pastore, P. M. 1991. Productividad aérea y subterránea de *Schoenoplectus californicus* en dos arroyos de la Provincia de Buenos Aires. *Biol. Acuát.*, 15: 154-155.
- Pedrozo, F. L., Temporetti, P., Diaz, M., Wenzel, T. & Bonetto, C. 1991. Estudio limnológico preliminar de la laguna Carrilauquén Chica (Río Negro, Argentina). *Biología Acuática*, 15: 54-55.
- Pieczynska, E. 1990. Litoral habitats and communities. En S. E. Jorgensen & H. Löffler (eds), *Guidelines of Lake Management*, 3: Lake shore management. *Internat. Lake Environm. Comm., Japón*: 39-71.
- Pizzolon, L., González, S. & Padilla, G. 1990. Características morfológicas, físicas y químicas de la laguna Willimanco (Noroeste de Chubut). XI Reunión Argentina de Ecología, Resúmenes, Rosario: 72.
- Pizzolon, L., Otaño, S., Arias, L. & Puig, A. 1993. Subproyecto Futaleufú Alto. Proyecto Limnología de la cuenca del río Futaleufú (Chubut, Argentina). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina, PID 1290/89; Universidad Nacional de la Patagonia S. J. B., PI 56/88 (CIUNPAT).
- Pizzolon, L. & Hechem, V. 1994. El fitoplancton de la laguna Willimanco. (Noroeste de Chubut) y sus relaciones con algunos factores ambientales. II Simposium de Ciencia y Tecnología, Patagonia Austral Argentina-Chile, Universidad Nacional de la Patagonia S. J. B., Comodoro Rivadavia, Argentina:
- Prabhakaran, N., Gupta, R. & Krishnakutty, M. 1987. Fungal activity in Malgalvan: a estuarine mangrove ecosystem. *Procced. Nat. Seminar on Estuarine Management*, Trivandrum, India: 458-463.
- Poi de Neiff, A. 1991. Descomposición y colonización del detrito de di-

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

- stintas especies de plantas en ambientes inundables del río Paraná. *Biol. Acuát.*, **15** (2): 158-159.
- Poi de Neiff, A. 1994. Quantitative importance of particulate matter retention by the roots of *Eichornia crassipes* in the Paraná floodplain. *Aquat. Bot.*, **47**: 213-223.
- Polunin, N. V. C. 1984. The decomposition of emergent macrophytes in freshwater. *Adv. Ecol. Res.*, **14**: 115-166.
- Quirós, R. & Baigún, C. 1985. Fish abundance related to organic matter in the Plata River basin, South America. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **114**: 377-387.
- Quirós, R. 1990. Factors related to variance of residuals in chlorophyll-total phosphorus regressions in lakes and reservoirs of Argentina. *Hydrobiologia*, **200/201**: 343-355.
- Reddy, K. R. & DeBusk, W. F. 1991. Decomposition of water hyacinth in eutrophic lake water. *Hydrobiologia*, **211**: 101-109.
- Rejmankova, E. 1989. Aquatic plant control research program: review of senescence as an important factor determining the relationships among aquatic plants, their epiphytes, and pathogens. *Misc. Pap. U. S. Army Eng. Waterways Exp. STN.*, 107 pp.
- Rheinheimer, G. 1987. *Microbiología de las aguas*. Ed. Acribia, Zaragoza, 299 pp.
- Rijkeboer, M., De Bles, F. & Gons, H. J. 1991. Role of sestonic detritus as a P-buffer. En G. Giussani, L. van Liele & B. Moss (eds), *Ecosystem research in freshwater environment recovery*. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **48**: 251-260.
- Sakamoto, M. 1966. Primary production and phytoplankton community in some Japanese lakes and its dependence on lake depth. *Arch. Hydrobiol.*, **62**: 1-28.
- Sommer, U. 1989. Preface. En U. Sommer (ed.), *Plankton Ecology*. Springer Verlag, Berlin: 1-8.
- Tóth, L.G. & Zlinszky, J. 1989. The importance of self-oxidation in matter-energy flow in lake ecosystems and its pH dependence. En J. Salanki & S. Herodek (eds), *Conservation and management of lakes*, Akademiai Kiadó, Budapest. *Symp. Biol. Hung.*, **38**: 209-215.
- Tur, N. M. 1995. Hydrophyta. En G. Tell & E. Lopretto (eds), *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio*. Ediciones Sur, La Plata, **2**: 443-496.
- Villar, C., De Cabo, L., Vaithyanatham, P. & Bonetto, C. 1997. Descomposición de macrofitas emergentes en el valle aluvial del bajo Paraná. *Resúmenes II Congreso Argentino de Limnología*, Buenos Aires: 160.
- Weisse, T. & Stockner, J. G. 1993. Eutrophication: The role of the microbial food webs. En R. de Bernardi, R. Pagnota & A. Pugnetti (eds), *Strategies for lake ecosystems beyond 2000*. Selected papers of the 5th international ILEC Conference, Stressa. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **52**: 113-150.
- Wetzel, R. G., Rich, P. H., Miller, M. C. & Allen, H. L. 1972. Metabolism of dissolved and particulate detrital carbon in a temperate hard-water lake. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **29** (Supp.): 185-243.
- Wetzel, R. G. 1990. Detritus, macrophytes and nutrient cycling in

L. Pizzolon: Descomposición de las macrofitas.

- lakes. Mem. Ist. Ital. Idrobiol. 47: 233-249.
- Wetzel, R. G. 1990 b. Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. Verh. internat. Verein. Limnol., 24: 6-24.
- Voronin, L. 1992. Kompleksy gribov na otmerzskykh makrofitakh raznotipnykh ozer Ehstonii. (Fungal complexes on dead macrophytes in Estonian lakes). Proceed. Estonian Acad. Sci. (Biol.), 41 (2): 77-85
- Voronin, L. 1992. Kompleksy gribov na otmerzskykh rastitelnykh substratah malkyh ozer Karelii (Fungal complexes on dead plant substrata in small lakes of Karelia). Proceed. Estonian Acad. Sci. (Biol.), 42 (2): 118-129.



**PRESENCIA DE NEMATODES (*CONTRACAECCUM SP.*)
EN "PELLETS" DEL CORMORAN REAL (*PHALACRO-
CORAX ALBIVENTER*) EN PUNTA LEON, CHUBUT,
ARGENTINA**

**Nematodes (*Contraecum sp.*) in pellets of the king
cormorant (*Phalacrocorax albiventer*) in Punta León,
Chubut, Argentina**

Viviana Malacalza (*), Marcelo Bertellotti (**)(***) y Teresita Poretti (****)

(*) 9 de Julio 444, (9120) Puerto Madryn, Chubut, Argentina. E-mail:
carneval@satlink.com.ar

(**) Centro Nacional Patagónico (CONICET) Bvd. Alte. Brown s/n,
(9120) Puerto Madryn.

(***) Universidad Nacional de la Patagonia S. J. Bosco, Bvd. Alte.
Brown 3700, (9120), Puerto Madryn.

RESUMEN

Los helmintos presentes en los "pellets" de *Phalacrocorax albiventer* fueron identificados como *Contraecum sp.* (Nematoda, Anisakidae). La prevalencia de los parásitos fue de 69,8% en el ciclo reproductivo 1991-92 y la intensidad media 7,1. Mientras que en el período 1992-93 la prevalencia fue 72,7% y la intensidad media 6,6. No se determinaron diferencias significativas en la prevalencia e intensidad media entre ambos ciclos; observándose que la ocurrencia de parásitos mostró una alta correlación con la ingesta del pez *Triathalassothia argentina*. Los

V. Malacalza *et al.*: Nematodes en el cormorán real.

resultados sugieren, que si bien los cormoranes estarían altamente parasitados, el hábito de las regurgitaciones podría reducir la intensidad parasitaria.

Palabras clave: parásitos, *Phalacrocorax*, nematodes, *Contraecum*.

ABSTRACT

The helminth species parasiting *Phalacrocorax albiventer* is *Contraecum sp.* (Nematode, Anisakidae). During 1991-92 breeding season the prevalence of nematodes was 69,8% and the mean intensity 7,1. During 1992-93 cycle the prevalence was 72,7% and the mean intensity 6,6. There is no significant difference in prevalence and mean intensity between the two cycles. The parasite frequency show a significant correlation with the ingestion of the fish *Triathalassothia argentina*. These results suggest that a greater number of cormorants were highly parasitized, but the regurgitation habit might to reduce the parasite intensity.

Key words: parasites, *Phalacrocorax*, nematodes, *Contraecum*.

INTRODUCCION

Phalacrocorax albiventer (Lesson, 1831) forma de mejillas negras (Murphy, 1936; Behen *et al.*, 1955; Malacalza, 1991), es un ave marina colonial que se distribuye en Argentina en costas e islas patagónicas, Tierra del Fuego e Islas Malvinas (Olrog, 1984).

En la Reserva de punta León (43° 04' 40" S, 64° 29' 45" W) se encuentra la colonia de cormoranes reales más septentrional y numerosa de la provincia del Chubut (Malacalza & Navas, 1996). En esta localidad Malacalza *et al.* (1994) estudiaron la dieta de

la especie a través del análisis de "pellets", observando que un elevado número de los mismos presentaban helmintos. Aunque algunos autores han mencionado la presencia de nematodes en "pellets" de cormoranes (Jordán, 1959; Ainley *et al.*, 1981; Barret *et al.*, 1990; Green *et al.*, 1990), poco se conoce sobre su prevalencia e intensidad. El objetivo del presente trabajo fue identificar los nematodes presentes en los "pellets" de *P. albiventer* y estimar la prevalencia e intensidad media de los parásitos en los mismos.

Deseamos agradecer a la Dra. C. Sutton y a la Lic. L. Reyes por

la valiosa colaboración prestada en la primera etapa del trabajo y a las Dras. G. Navone y C. Pastor por los oportunos comentarios sobre el manuscrito.

MATERIALES Y METODOS

Fueron examinados 289 "pellets" recolectados en la colonia de punta León entre los meses de octubre y febrero, durante los períodos reproductivos 1991-92 (n = 212) y 1992-1993 (n = 77).

Los nematodos fueron fijados en alcohol 70% y aclarados en una solución de glicerina, alcohol 70% y agua destilada (1:1:2). La determinación sistemática se realizó mediante la clave de Anderson *et al.* (1974), sin poder alcanzar el nivel específico a causa del estado de deshidratación en que fueron hallados los nematodos.

Se calculó la **prevalencia** de los parásitos como el número de "pellets" con nematodos dividido por el número total de "pellets" examinados y la **intensidad media** como el número total de nematodos hallados dividido por el número de "pellets" con nematodos.

Se aplicó una prueba U de Mann-Whitney para comparar la prevalencia de nematodos y su intensidad media entre los ciclos reproductivos 1991-92 y 1992-93.

Para conocer el grado de relación entre los peces más importantes en la dieta de *P.*

albiventer (Malacalza *et al.*, 1994; Malacalza, datos inéditos) y la frecuencia de nematodos se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman; en razón de los datos de dieta disponibles, el análisis de correlación estuvo limitado a los meses de octubre a diciembre.

RESULTADOS

Los nematodos hallados pertenecen al género *Contracaecum* Railliet y Henry, 1912 (Ascaroidea, Anisakidae); observándose en los "pellets" la presencia tanto de adultos como larvas.

En el ciclo reproductivo 1991-92 la prevalencia de nematodos fue del 73,7%, registrándose un mínimo de 54,0% en el mes de noviembre y un máximo de 96,0% en febrero. Mientras que en el ciclo 1992-93 la prevalencia fue del 72,7%, con un mínimo de 67,0% en octubre y un valor máximo de 76,0% en noviembre.

La intensidad media en el período 1991-92 resultó ser de 7,1, oscilando entre un mínimo de 4,1 en noviembre y un máximo de 8,7 en octubre. Respecto del ciclo 1992-93, la intensidad media fue de 6,6, con un mínimo de 5,8 en noviembre y febrero, y un máximo de 10,3 en octubre.

En las comparaciones entre prevalencias e intensidades medias para los ciclos 91-92 y 92-93, no fueron encontradas diferencias significativas ($p > 0,05$).

Tabla 1: Frecuencia numérica (%) de las presas dominantes (*Raneya brasiliensis* y *Triathalassothia argentina*) y la intensidad media de nematodos en "pellets" de *Phalacrocorax albiventer* para los ciclos 1991-92 y 1992-93 y los meses de octubre a diciembre (postura, incubación y nacimientos). Datos obtenidos de (*) Malacalza *et al.* (1994) y (**) Malacalza (datos inéditos).

CICLO	Especie	octubre	noviembre	diciembre
1991-1992* (n = 101)	<i>R. brasiliensis</i>	43%	59%	32%
	<i>T. argentina</i>	44%	17%	8%
Intensidad		8,7	4,1	8,0
1992-1993** (n = 56)	<i>R. brasiliensis</i>	46%	49%	59%
	<i>T. argentina</i>	35%	23%	28%
Intensidad		10,3	5,8	5,6

Las especies *Raneya brasiliensis* [*fluminensis*] y *Triathalassothia argentina* (Ophiididae y Batrachoididae respectivamente) fueron las presas más importantes en la dieta de *P. albiventer* en punta León (Malacalza *et al.*, 1994). Al relacionarse la frecuencia numérica de esas especies con la intensidad media de *Contracaecum* (Tabla 1),

se observa que cuando la frecuencia de *T. argentina* se reduce también baja la intensidad media de los nematodos; resultando significativa la correlación ($r = 0,45$, $n = 157$, $p < 0,0001$) entre ambas variables.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los representantes del género *Contracaecum* parasitan en estado larval a diversos grupos de peces (Bellisio *et al.*, 1979) y sus estados adultos pueden encontrarse en peces, aves y mamíferos marinos (Gutierrez, 1943).

El alto porcentaje (más del 70%) de nematodos del género *Contracaecum* en los "pellets" analizados, sugiere que los cormoranes estarían altamente parasitados. Sin embargo, el hábito de las regurgitaciones de estas aves ayudaría a eliminar una parte de los mismos. Es así que autores como Jordán (1950) y Ailey *et al.* (1981) señalan un control de las poblaciones de nematodos a través de la regurgitación de los "pellets".

Green *et al.* (1990) consideran que los nematodos hallados en "pellets" de *Phalacrocorax atriceps* derivarían de los peces ingeridos por las aves. Asimismo, en el caso de *P. albiventer* se observó la relación significativa entre la intensidad de nematodos y la frecuencia del pez *Triathalassothia argentina*, lo que podría indicarlo como uno de los eventuales hospedadores intermediarios de *Contracaecum sp.* Otra especie que debería ser investigada, como posible hospedador de *Contracaecum sp.* es *Engraulis anchoita*; este pez durante el mes de diciembre en el ciclo 1991-92 pasó a ser la presa dominante (Mala-

calza *et al.*, 1994), momento en el que disminuyó la frecuencia de *T. argentina* pero continuó elevada la intensidad de los nematodos en los "pellets" (ver Tabla 1).

Por otro lado autores como Barret *et al.* (1990) destacan el rol favorable que ejercerían los cormoranes sobre las poblaciones de peces al consumir especies parasitadas en alto grado. Surgiría entonces el interrogante: el hábito ictiófago de estas aves podría ejercer algún control sobre las poblaciones de peces parasitados? y la regurgitación jugaría un rol importante como mecanismo de control?.

Futuros estudios deberían identificar la especie observada de *Contracaecum*, como así también su ciclo de vida. Por otra parte, un detallado análisis de la prevalencia e intensidad media de los helmintos en las poblaciones de cormoranes y en los peces presa de este hospedador, podrían ir aclarando el interrogante planteado.

BIBLIOGRAFIA

- Ainley, D. G., Anderson, D. W. & Kelly, P. R. 1981. Feeding ecology of marine cormorants in Southwestern North America. *Condor*, 83: 120-131.
- Hartwich, G. 1974. Keys to the genera of the Ascaridoidea. En R. C. Anderson, A. G. Chabaud, S. Willmontt (eds) CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. Commonwealth Agriculture-

V. Malacalza *et al.*: Nematodes en el cormorán real.

- ral Bureaux, Farnham Royal, England, N° 2, 15 pp.
- Barret, R. T., Rov, N., Loen, J. & Montevocchi, W. A. 1990. Diet of shags *Phalacrocorax aristotelis* and cormorants *P. carbo* in Norway and possible implications for gadoid stock recruitment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **66**: 205-218.
- Behen, F., Goodal, J. D., Johnson, A. W. & Philippi, B. 1955. The geographic distribution of the blue-eyed shags *Phalacrocorax albiventer* y *Phalacrocorax atriceps*. *Auk*, **72**: 6-13.
- Bellisio, N. B., Lopez, R. B. & Torno, A. 1979. Peces marinos patagónicos. Ministerio de Economía, Secretaría de Estado de Intereses Marítimos, Argentina, 279 pp.
- Green, K., Williams, R., Woehler, E. J., Burton, H. R., Gales, N. J. & Jones, R. T. 1990. Diet of the Heard Island cormorant *Phalacrocorax atriceps nivalis*. *Ant. Sci.* **2** (2): 139-41.
- Gutierrez, R. O. 1943. Sobre la morfología de una nueva especie de "Contracecum" (Nematoda, Ascaroidea). *Rev. Brasil. Biol.*, **3** (2): 159-172.
- Jordán, R. 1959. El fenómeno de las regurgitaciones en el Guanay (*Phalacrocorax bougainvillii*) y un método para estimar la ingestión diaria. *Bol. Comp. Admora. Guano*, **35**: 23-40.
- Malacalza, V. E. 1991. External characters in the offspring resulting from cross-breeding between cormorant species. *Colonial Waterbirds*, **14** (2): 180-183.
- Malacalza, V. E., Poretti, T. I. & Bertellotti, N. M. 1994. La dieta de *Phalacrocorax albiventer* en Punta León (Chubut, Argentina) durante la temporada reproductiva. *Ornitología Neotropical*, **5**: 91-97.
- Malacalza, V. E. & Navas J. R. 1996. Biología y ecología reproductiva de *Phalacrocorax albiventer* (Aves: Phalacrocoracidae) en Punta León, Chubut, Argentina. *Ornitología Neotropical*, **7**: 53-61.
- Murphy, R. C. 1936. Oceanic birds of South America. The McMillan Company, New York, 1245 pp.
- Olrog, C. C. 1984. Las Aves Argentinas. Una nueva guía de campo. Parques Nacionales, Buenos Aires, 349 pp.

LA GAMETOGENESIS DE LA CENTOLLA, *LITHODES SANTOLLA* (MOLINA, 1782) (CRUSTACEA, DECAPODA, LITHODIDAE)

The gametogenesis in the southern king crab
Lithodes santolla (Molina, 1782).

Julio H. Vinuesa y Mabel L. Labal de Vinuesa (+)

Centro Austral de Investigaciones Científicas Av. Malvinas Argentinas s/n°. 9410 Ushuaia, Tierra del Fuego.

(+) Fallecida el 17 de agosto de 1997.

RESUMEN

El trabajo se ha realizado mediante el análisis histológico y citológico de ovarios y testículos de la centolla, con el fin de determinar sus características y la duración de los distintos fenómenos citológicos involucrados. Se ha analizado también la dinámica de los espermatóforos en el conducto deferente de los machos con el fin de conocer los períodos de mayor actividad y su relación con la formación de espermatozoides. La gametogénesis comienza en ambos sexos entre diciembre y principios de enero. Durante la oogénesis, las células sexuales femeninas pasan por una etapa de proliferación que dura aproximadamente diez meses, una fase de vitelogénesis proteica inicial de aproximadamente seis meses y una etapa secundaria de vitelogénesis lipídica de ocho meses de duración. Aunque la duración total del proceso de oogénesis es bienal, comienza todos los años, asegurando una producción anual de ovocitos maduros. La espermatogénesis también pasa por una etapa proliferativa,

que dura diez u once meses y una fase de maduración, que incluye la etapa espermatocítica, de ocho o nueve meses de duración y una fase de espermiogénesis. Al igual que en la oogénesis, el proceso de espermatogénesis es aproximadamente bienal y comienza todos los años. Los espermatóforos presentan una acumulación gradual luego de cada época de apareamiento y la presencia de éstos en el conducto deferente es continua.

Palabras clave: *Lithodes santolla*, gametogénesis, oogénesis, espermatogénesis, espermatóforos.

ABSTRACT

The study of ovaries and testicles of southern king crab (*Lithodes santolla*) individuals from Beagle Channel (Tierra del Fuego, Argentina) were carried out by means of microscopic examination, oocyte measuring and an analysis of the area occupied by different cohorts of sexual male cells. Spermatophore dynamics in the deferent duct was also studied. Gametogenesis start in both sexes in December or early January. During oogenesis sex cells pass through a proliferative phase which lasts 10 months, a initial proteic vitellogenesis of 6 months and a secondary yolk deposition of 8 months. Although the gametogenic process is biennial, it began every year, assuring mature ova production annually. Spermatogenesis also passes through a proliferative phase (10-11 months) and a maturing phase, who include a spermatocitic (8-9 months) and a spermgogenesis (more than 2 months) stages. Similar to females, two simultaneous cohorts of sexual cells are present in testicles. Spermatophores gradually accumulate after each mating season, in December, and the presence of them in the deferent duct is continuous.

Key words: *Lithodes santolla*, gametogenesis, oogenesis, spermatogenesis, spermatophores.

INTRODUCCION

La centolla, *Lithodes santolla* (Molina 1782), es un crustáceo decápodo ampliamente distribuido en el extremo austral de América

y es objeto de pesquerías en el sur de Chile, Estrecho de Magallanes, archipiélago de la Tierra del Fuego y costas del sur de Chubut.

En ambos países existen regulaciones a la pesca, que reglaman-

tan el tipo de arte a ser utilizado, los tamaños mínimos de captura, la prohibición de la extracción de hembras y la instauración de períodos de veda. Dentro de la gama de disposiciones posibles, existen algunas que involucran un conocimiento profundo de la biología reproductiva de la especie, tales como el tamaño mínimo de captura y vedas parciales, entre otros. Por este motivo todos los estudios que aporten datos con estos fines son de interés para los entes reguladores de la pesca.

Si bien existen varios trabajos que tratan sobre la reproducción de estos animales, muy pocos son los que analizan el fenómeno de formación y desarrollo de las células sexuales y su duración. Sapelkin & Fedoseev (1980) describen el proceso de espermatogénesis de *Paralithodes camtschaticus*, que dura dos años. Vinuesa (1982, 1984) concluye que la espermatogénesis en *Lithodes santolla* no es un fenómeno anual y que la oogénesis duraría unos 15-16 meses, pero con desoves anuales.

Se han observado en otras especies desoves bienales, como en el "blue king crab", *Paralithodes platypus* (Somerton & MacIntosh, 1983), analizándose más tarde la oogénesis y comprobándose que la misma también dura dos años (Jensen *et al.*, 1989). Hay también información de otras especies del género: *Lithodes couesi* (Somerton, 1981), *Litho-*

des aequispina (Otto & Cumiskey, 1985) y *Lithodes ferox* (Abelló & Macpherson, 1992) que presentan desoves asincrónicos, pero los autores no analizan el proceso gametogénico.

En la otra especie frecuente en el canal Beagle, *Paralomis granulosa*, se han comprobado desoves bienales y una duración de la gametogénesis de tres años ó más (Lovrich, 1991; Lovrich & Vinuesa, 1993). En *Paralomis spinosissima* de aguas cercanas a las islas Georgias se ha indicado que el desove en la especie no es anual en un mismo individuo y se supone también una duración de la oogénesis de más de un año (Otto & MacIntosh, 1996).

En el presente trabajo se analiza el proceso de la gametogénesis en la centolla, principalmente los aspectos relacionados con la duración de las diversas etapas celulares y el proceso de acumulación de espermátóforos en los machos.

Este trabajo fue financiado por el subsidio al Proyecto PID N° 309900 del CONICET. Se agradece la colaboración recibida por las empresas pesqueras de la zona, Pesquera del Beagle y Mar Frío, al permitir el embarco y la extracción de muestras para este trabajo. Al Sr. A. Villarreal por la confección de las figuras y a nuestro colega, Dr. G. Lovrich, por las críticas y sugerencias vertidas en el manuscrito.

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron histológicamente muestras de ovarios, testículos y conducto deferente de ejemplares de *Lithodes santolla*, entre mayo de 1984 y marzo de 1986, provenientes del canal Beagle (Tierra del Fuego, Argentina). El tamaño de muestra osciló entre 4 y 11 ejemplares de cada sexo por mes. Este número se ha considerado adecuado, dada la gran sincronización observada en el desarrollo y maduración gonadal estudiada previamente (Vinuesa, 1982, 1984). No se obtuvieron muestreos en dos oportunidades, en coincidencia con el período de veda a la pesca que regulaba la extracción de la especie en el canal Beagle.

Todos los ejemplares estudiados provinieron de los fondos comunes de pesca del canal Beagle y fueron capturados con las trampas comerciales. Todas las hembras estudiadas eran adultas, ovígeras, con longitudes de caparazón (LC) que oscilaron entre 72 y 96 mm. Para el estudio de la oogénesis, se quitó el caparazón y se extrajo una porción de la parte anterior del ovario de cada hembra, se seccionó en forma transversal y se lo fijó en una solución de formol 8 % en agua de mar. A una parte de la muestra, luego de 48 hs. se procedió a la deshidratación e inclusión en parafina, para realizar cortes de 10 μm de espesor. A la

otra parte de la muestra, se midió el diámetro máximo de aproximadamente 50 células germinales de cada ejemplar, mediante el uso de un ocular graduado, bajo microscopio. De esta medición, se excluyeron las gonias y células madres de la cresta germinativa, por ser muy pequeñas y de tamaño similar.

Para el reconocimiento de las células sexuales, se utilizó la descripción dada ya en esta misma especie (Vinuesa, 1984), identificándose: **1**, células madres de oogonias y **2**, oogonias, siempre presentes en la cresta germinativa ventral. Se identificaron también: **3**, oocitos previtelogénicos; **4**, oocitos en vitelogénesis primaria, que corresponde a una etapa endógena de formación de vitelo proteico y **5**, oocitos en vitelogénesis secundaria, células de 120 a 1900 μm , con citoplasma muy acidófilo y abundante deposición de vitelo.

Para el análisis de la espermatogénesis, se extrajeron los testículos y conductos deferentes de la cavidad del cuerpo de animales sexualmente maduros, a juzgar por la presencia de espermátóforos en su conducto deferente. Las tallas de los ejemplares variaron entre 83 y 118 mm de LC. Se fijaron en solución de Clarke (Carnoy 3:1) durante 15 a 20 horas, se deshidrataron en alcohol absoluto y se incluyeron en parafina, para efectuar cortes de 7 a 8 μm de espesor que se colorear-

ron con tricrómico en un tiempo (Gabe, 1968).

En los testículos se identificaron **1**, espermatogonias y **2**, células madres de las espermatogonias, similares a las oogonias, ubicadas en la periferia del túbulo espermático, **3**, espermátocitos I y **4**, espermátocitos II, **5**, espermátidas y **6**, espermatozoides, estos últimos bien diferenciados por ser espinosos, visibles normalmente en el conducto seminífero y en el conducto deferente, ya incluidos en los espermátóforos (Vinuesa, 1984).

Con el objeto de verificar la dinámica de la acumulación de espermátóforos y estudiar la estacionalidad de los mismos, se efectuó también un conteo de espermátóforos en cortes transversales del conducto deferente donde se almacenan los mismos.

RESULTADOS

Desarrollo de la oogenésis.

El aparato genital femenino se halla constituido por un par de ovarios y cortos oviductos que desembocan en los gonoporos, ubicados en las coxas del último par de pereiópodos y carecen de receptáculos seminales (Vinuesa, 1984) típicos en muchos Brachyura. Una característica importante es que los ovarios se ubican dorsalmente en el cefalotórax y se extienden también al abdomen en

los individuos en maduración y maduros.

De acuerdo con las imágenes histológicas, cada nuevo ciclo de multiplicación de las oogonias comienza todos los años entre fines de noviembre y principios de enero, en forma aproximadamente simultánea con la oviposición y puede proseguir hasta los meses de abril o mayo. A partir de febrero o marzo, comienza el crecimiento de las oogonias terminales, que se transforman paulatinamente en oocitos previtelogénicos. Ya a partir de los meses de julio o agosto comienzan a apreciarse en estos oocitos la formación de vitelo primario, apareciendo como inclusiones más acidófilas en el citoplasma de las células. En esta época es posible detectar en las hembras ya maduras los oocitos en las tres etapas de su desarrollo.

Luego de la acumulación inicial de vitelo proteico, entre los meses de febrero y marzo, comienza la denominada vitelogénesis secundaria o lipídica, que se extiende durante aproximadamente ocho meses, hasta alcanzar la madurez total del oocito. A diferencia de lo que se observa en otros crustáceos, no se ha hallado una estructura que diferencie entre los oocitos maduros y los oocitos en maduración y sólo el mayor tamaño de los primeros permite distinguirlos.

En la Figura 1 se observa la evolución del tamaño de las

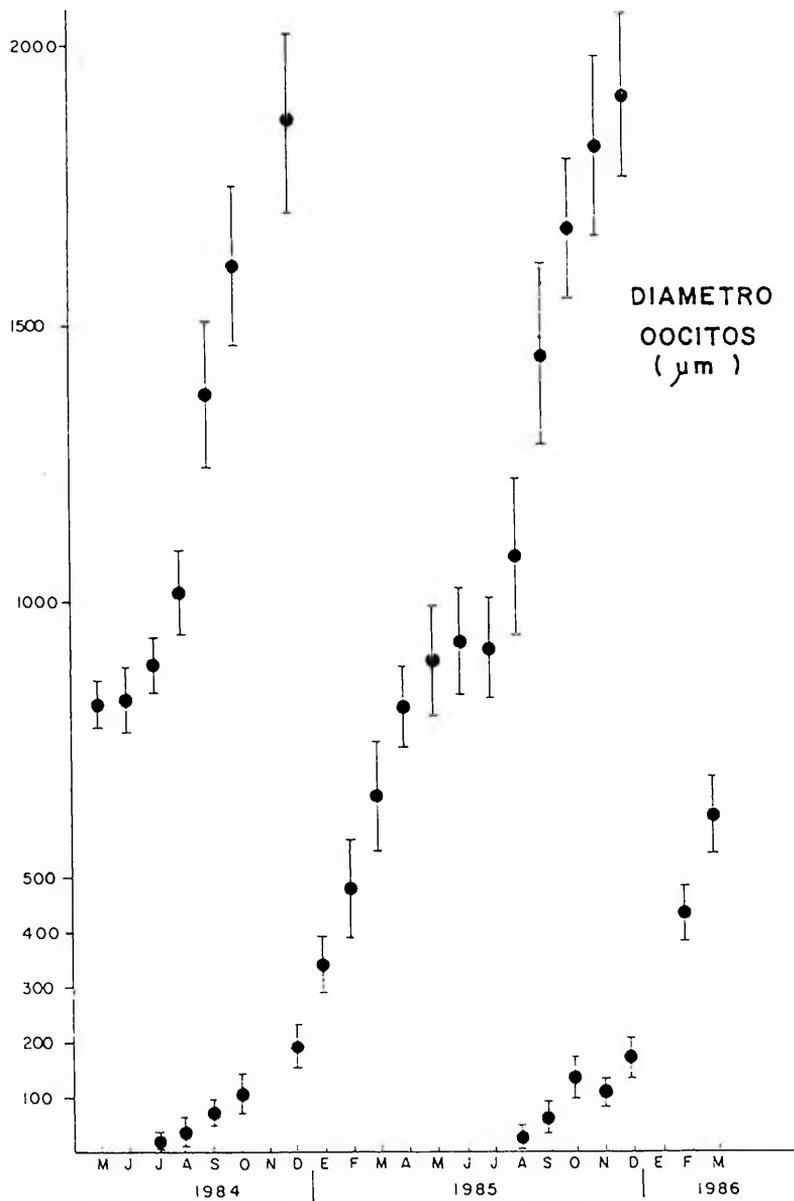


Figura 1: Evolución del diámetro de las células sexuales femeninas, a partir de oocitos previtelogénicos, durante el período estudiado.

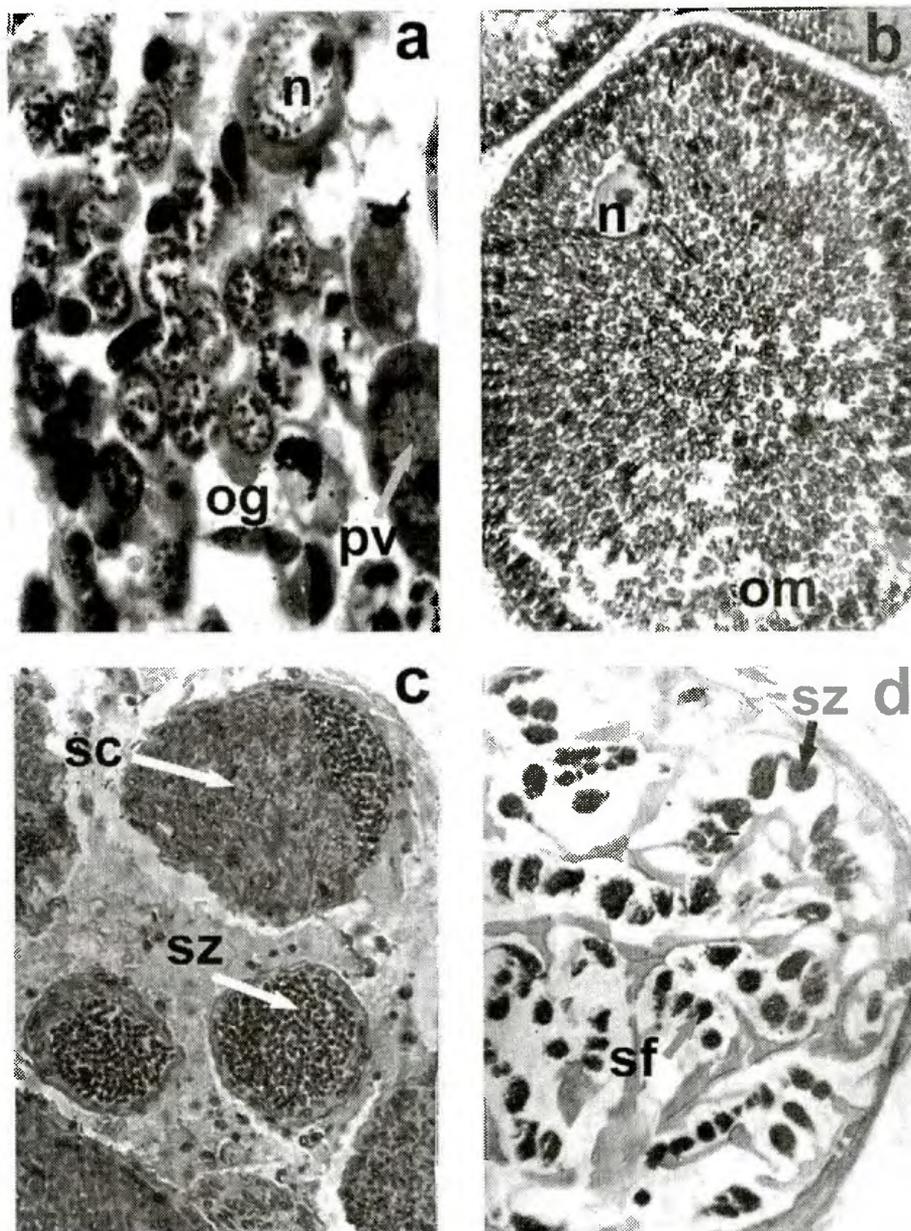


Figura 2: a, Detalle de la cresta germinativa del ovario (A:X400); b, Oocito maduro (A:X100); c, corte de testículo (A:X100); d, Corte transversal de conducto deferente almacenador (A:X40). og: oogonias; pv: oocito previtelogénico; n: núcleo; om: oocito maduro; sc: espermatocito; sf: espermatóforos; sz: espermatozoides.

células sexuales en los meses de muestreo. El mayor incremento en tamaño de los oocitos se produce durante la vitelogénesis secundaria (Fig. 2 b). Se puede apreciar también una notable disminución del ritmo de crecimiento del oocito entre mayo y julio, meses en los cuales la temperatura del agua alcanza sus registros más bajos (entre 3,5 y 4,5 °C).

Entre los meses de agosto a noviembre, siempre es posible observar en la cresta germinativa del ovario células madres de oogonias u oogonias (Fig. 2 a), aunque en cantidades reducidas.

De esta manera, el proceso completo de la oogénesis en *Lithodes santolla* duraría casi dos años, pero con cada ciclo comenzando en forma anual, lo que asegura una producción de oocitos maduros todos los años, cerca de la época de reproducción.

Desarrollo de la espermatogénesis.

El sistema genital del macho esta constituido por un par de testículos, formados cada uno por un único túbulo, delgado y muy enrollado, ubicados ambos a nivel del segundo segmento del abdomen, como en todos los Paguroidea (MacLoughlin, 1980). Los testículos se hallan casi siempre separados, pero los túbulos se unen debilmente por tejido conectivo (Fig. 2 c).

Dentro del túbulo testicular se

extiende el conducto seminífero (Fig. 2 c), separado del testículo propiamente dicho por un epitelio muy delgado. Se continúa luego en el conducto deferente, dividido como en los otros crustáceos decápodos en tres zonas principales: a) una región anterior secretora, formadora de espermátóforos, b) una región media almacenadora y c) una zona distal o eyaculatoria (Farmer, 1974; Vinuesa, 1984).

En el testículo, las células sexuales se disponen en cohortes y se hallan separadas entre sí por una membrana constituida por una capa de células aplanadas, igual a lo observado en *Paralithodes camtschaticus* (Sapelkin & Fedoseev, 1978 y 1980). El análisis histológico permite visualizar que en cualquier época del año el testículo presenta siempre las tres generaciones de células: espermátogonias y células madres, células en desarrollo (espermátocitos I, II y espermátidas) y espermátocitos, apreciables en diferentes sectores del mismo.

Cada ciclo nuevo de la espermatogénesis comienza todos los años, principalmente en diciembre, en forma coincidente con las hembras. En enero, la cantidad de espermátogonias aumenta considerablemente, aunque es posible apreciar también en el testículo espermátocitos y cantidades reducidas de espermátocitos en el conducto seminífero. Los espermátocitos se hallan en una etapa de gran desarrollo, ocupan-

do un porcentaje importante del testículo, pero no se observan imágenes de divisiones celulares en los cortes analizados en esta época.

A medida que transcurren los meses, el área de espermatogonias se agranda paulatinamente, llegando a un máximo de expansión en los meses de octubre o noviembre. En este mismo período, una gran proporción de espermatogonias comienzan a transformarse en espermátocitos I, que ocupan así proporciones importantes del testículo. Durante el verano y otoño siguientes, la zona de espermátocitos se convierte en la más importante, con pocas variaciones hasta setiembre u octubre. En los meses de julio y agosto se pueden observar abundantes espermátidas, que entrarán en espermiogénesis poco después. Es característica de la etapa de maduración el alto grado de sincronismo en la división de los espermátocitos I, hecho observado también en *Paralithodes camtschaticus* (Sapelkin & Fedoseev, 1978 y 1980).

En la Figura 3 se esquematiza el ciclo espermatogénico en la especie, donde se pueden apreciar los dos ciclos paralelos defasados y donde se explica la continua presencia de espermatozoides y la coexistencia de estos con células en maduración en cualquier época del año.

Formación y abundancia de espermátocitos.

El espermátocito en esta especie se halla constituido por el hilo ó banda espermatofórica y la matriz, constituida por una secreción líquida ó semi líquida, segregada por las células del espermiducto y conducto deferente proximal.

El proceso de formación de los espermátocitos es muy similar al descrito en *P. camtschaticus* (Sapelkin & Fedoseev, 1986): los espermatozoides provenientes del espermiducto entran al conducto deferente proximal, donde son rodeados por una secreción de las células epiteliales, formándose así el espermátocito primario. Este sigue su recorrido por el conducto, adquiriendo una forma piriforme y pediculada, fragmentándose luego para formar el espermátocito definitivo. Todos estos se unen fuertemente por su pedículo a la banda espermatofórica, segregada en el último sector del conducto deferente proximal. A medida que avanzan por el conducto, las células epiteliales de éste se van tornando más planas y dejan de producir secreciones, quedando luego las bandas con espermátocitos acumulados masivamente en el conducto deferente almacenador. Este último tramo es el sector más engrosado del conducto deferente, con secciones que pueden alcanzar hasta 5 mm de diámetro.

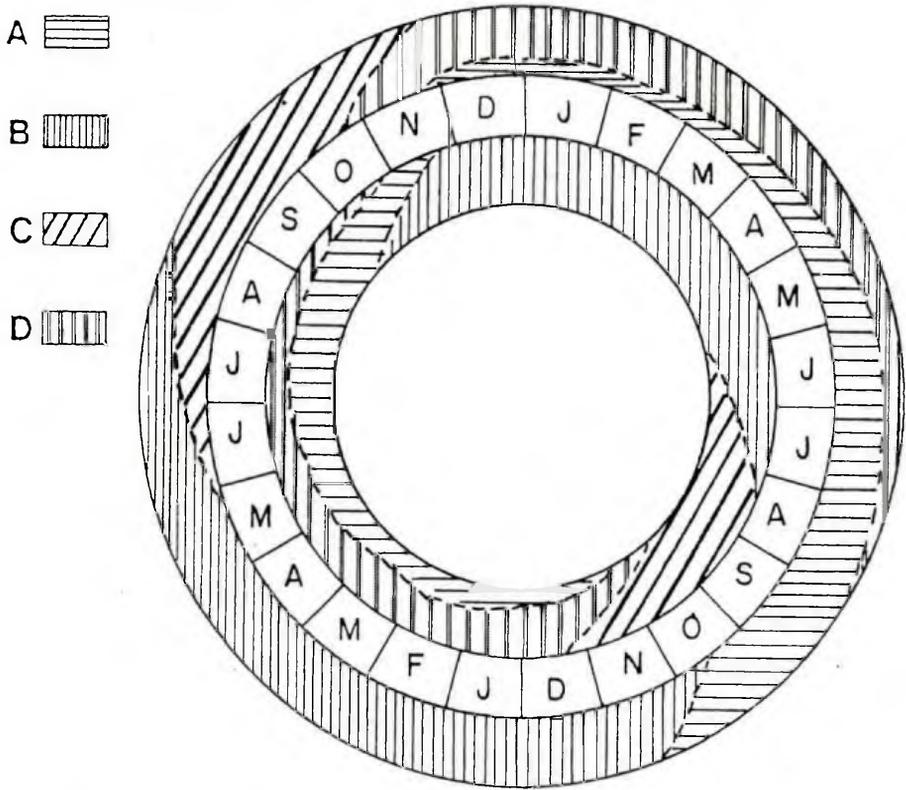


Figura 3: Esquema donde se representan los dos ciclos spermatogénicos paralelos visualizados en el testículo y la duración aproximada de los mismos. A: Etapa de multiplicación de las espermatogonias. B: Etapa de maduración inicial, con predominio de espermatocitos I. C: Etapa de maduración avanzada, con predominio de espermatocitos II y espermátidas. D: Etapa de espermiogénesis.

En la Figura 4 se puede apreciar la evolución del número de espermátóforos, contados en secciones de conducto deferente, durante el período de estudio. En el verano, luego de la época reproductiva, se hallan relativamente pocos espermátóforos,

variando las medias de los conteos entre 18,6 y 25,3. El número de espermátóforos es mayor antes de la época reproductiva, variando las medias de los conteos entre 31,5 y 42,3. Se observan importantes variaciones numéricas en las muestras de un mismo mes,

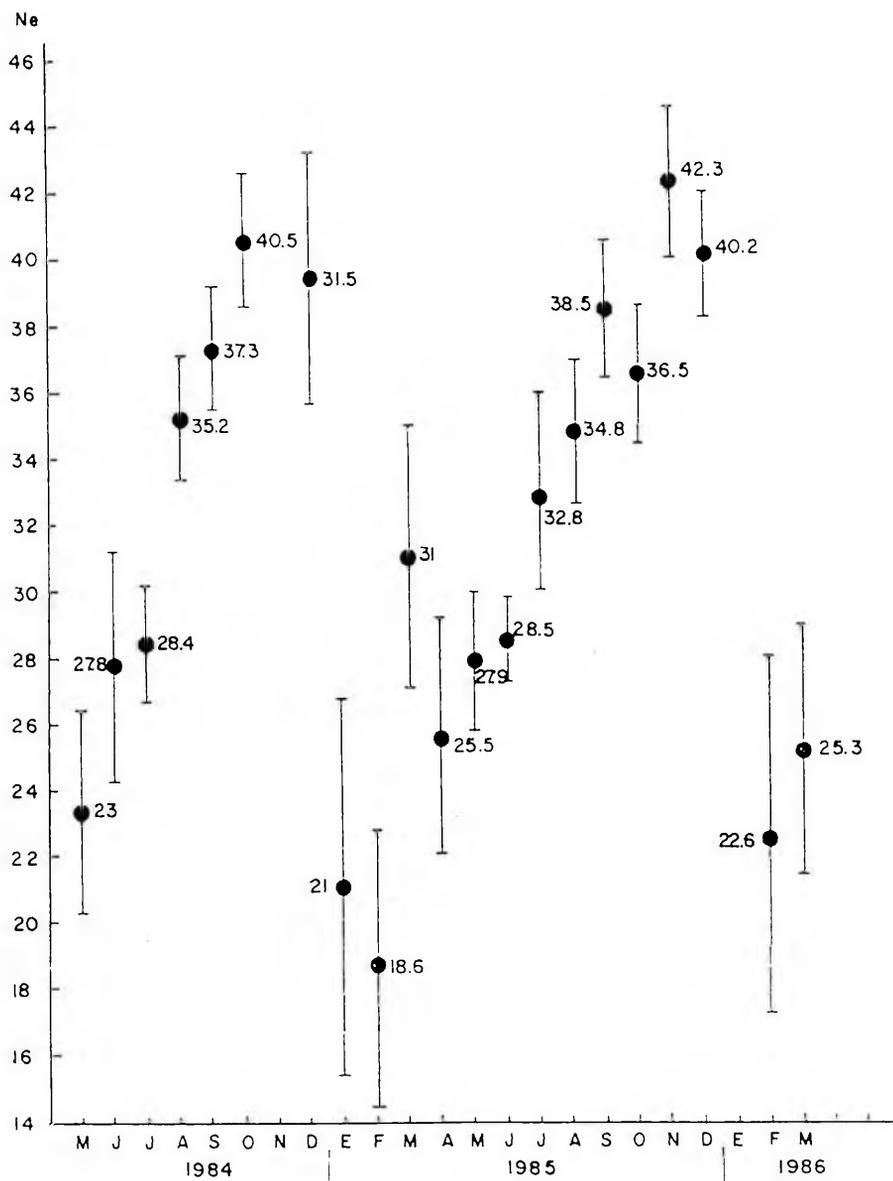


Figura 4: Gráfico que ilustra el número de espermatozoides contados en secciones transversales del conducto deferente almacenador, durante el estudio.

siendo mayor la variabilidad después del período de acoplamiento, entre diciembre y marzo (Fig. 4).

DISCUSION

La oogénesis de *Lithodes santolla* ha sido descrita anteriormente (Vinuesa, 1984) y los tiempos de duración de los fenómenos vitelogénicos han sido muy similares a los vistos en ése estudio; en el trabajo mencionado se concluye que la formación de oocitos maduros tardaría unos 12 meses, pero partiendo de oocitos previtelogénicos. En el presente estudio se ha demostrado que esta etapa es muy prolongada y se ha comprobado que la duración total de la oogénesis es de 20 a 23 meses. Estos datos se confirman también con un estudio previo sobre el desarrollo de la oogénesis y el crecimiento en las hembras de la especie, ya que se hallaron hembras pequeñas durante el primer año del proceso que mudan dos veces al año (en invierno y en verano) y se observó la aneudisis invernal de las hembras en el segundo año de la oogénesis, posiblemente debido a una priorización en la derivación de energía a la maduración del ovario (Vinuesa *et al.*, 1991).

Los testículos de *Lithodes santolla* poseen la misma constitución que los descritos en *Paralithodes camtschaticus* (Sapelkin & Fedoseev, 1978). También se

ha observado la misma anatomía en otras tres especies analizadas: *Paralomis granulosa* (Lovrich, 1991), *Paralomis formosa* y *Lithodes turkayi* (obs. pers.); ésto señalaría una característica morfológica unitubular particular en los testículos en la familia Lithodidae.

De acuerdo a las observaciones realizadas en el desarrollo de la espermatogénesis, no se ha podido determinar con exactitud la duración de la espermiogénesis, pero es obvio que el proceso no se halla sincronizado, como en el caso de la división de los espermatoцитos I. La presencia continua de espermatozoides en el conducto seminífero indicaría que esta diferenciación es gradual, aunque más importante durante fines del invierno. Se ha comprobado que la etapa de multiplicación y maduración de las gonias dura unos 10-11 meses y 8-9 meses la duración de las generaciones de espermatoцитos. Al durar no menos de dos meses la generación de espermátidas, antes de comenzar la espermiogénesis, se calcula que el ciclo espermatogénico completo dura en la centolla más de 20 meses. Aparentemente las etapas finales de este proceso son muy paulatinas, lo que explica la presencia continua de espermatozoides en los conductos seminíferos, antes de alcanzar el conducto deferente. Existen en los testículos dos ciclos espermatogénicos simultáneos, con un desplazamiento de un año entre ambos,

que aseguran una producción de espermatozoides prácticamente continua.

El comienzo del proceso espermatogénico en los machos se produce principalmente en el mes de diciembre ó en enero. En esta época y en los individuos adultos, es posible observar espermatozoides y espermatozoides. En los machos pequeños, juveniles e inmaduros, en cambio, solo pueden visualizarse espermatogonias y/o espermatozoides. Esto indicaría que aquellos ejemplares que sólo poseen espermatogonias, son juveniles ó animales que comienzan recientemente la espermatogénesis y aquellos en los cuales también se observan espermatozoides, habrían iniciado la espermatogénesis un año antes. En todos los casos se trata siempre de individuos pequeños, cuyo caparazón nunca excede los 60-65 mm de longitud. Estos datos concuerdan con un estudio previo en el cual se relaciona la madurez sexual con la presencia de conductos deferentes colmados de espermatozoides y la longitud de los animales (Vinuesa, 1984).

El análisis del contenido de espermatozoides ha permitido verificar que los mismos pueden permanecer almacenados en el conducto deferente por períodos mayores de un año. Esto es porque aún inmediatamente después de la época de reproducción, es posible observar importantes cantidades de espermatozoi-

ros en reserva, probablemente formados antes del período de apareamiento. Por otra parte existe una acumulación de espermatozoides previa a la época de reproducción, pero la misma no se produce en forma masiva, sino que es un proceso más lento.

Los machos estarían capacitados para fecundar varias hembras, principalmente los más grandes, con mayor capacidad de almacenamiento de espermatozoides, tal como ocurre en *Paralithodes camtschaticus* (Paul & Paul, 1990). Esto explicaría que la mayor variabilidad en el contenido de espermatozoides luego de la época reproductiva podría estar asociada al número de hembras fecundadas por cada animal, ó a la posibilidad de que algunos machos no hayan participado en el apareamiento. Los resultados obtenidos en este trabajo han permitido ver que la centolla posee las mismas características reproductivas que el "red king crab" del océano Pacífico Norte: con ciclos gametogénicos de dos años de duración y desoves anuales, con períodos de portación de huevos de unos 10 meses en la centolla (Vinuesa, 1982 y 1987) y unos 11 meses en el "red king crab" (Wallace *et al.*, 1949). También resultan similares los tiempos de duración de las diferentes cohortes de células sexuales en maduración en ambos sexos.

Difieren, sin embargo, en la

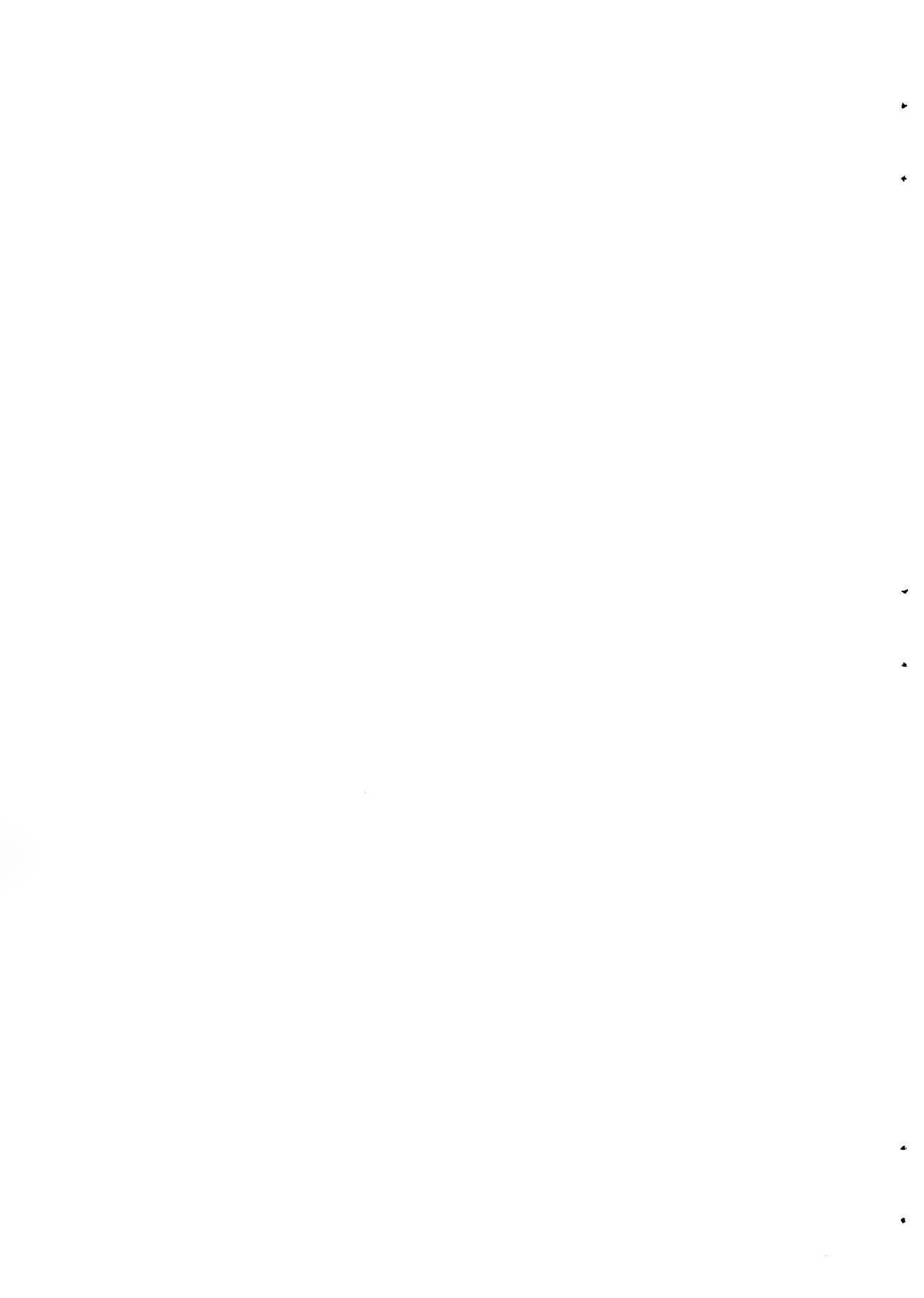
producción de embriones o fecundidad (entendida como número de huevos por hembra) y en las características del desarrollo larval. La centolla llega a portar hasta unos 60.000 huevos de aproximadamente 2 mm de diámetro (Guzmán & Campodónico, 1972), que luego de eclosionar pasan por tres estadios de zoea (Campodónico, 1971), que presentan un planctotrofismo facultativo, ya que pueden arribar a la etapa postlarval sin alimentarse (Comoglio & Vinuesa, 1991; Oyarzún & Latorre, 1997). Por el otro lado, *Paralithodes camtschaticus* puede portar hasta más de 350.000 huevos de 1 mm de diámetro (Matsuura *et al.*, 1971), que pasan por cuatro estadios de zoea estrictamente planctotróficas (Kurata, 1959).

BIBLIOGRAFIA

- Abelló, P. & Macpherson, E. 1992. Epibiosis and rhizocephalan infestation patterns in relation to the reproductive biology of *Lithodes ferox* /Filhol, 1885) (Anomura, Lithodidae). *J. Crust. Biol.*, 12: 561-570.
- Campodónico, I. 1971. Desarrollo larval de la centolla *Lithodes antarcticus* Jacquinot en condiciones de laboratorio. *Ans. Inst. Pat., Pta. Arenas*, 2: 181-190.
- Comoglio, L. I. & Vinuesa, J. H. 1991. Larval culture of southern king crab *Lithodes santolla* and false king crab *Paralomis granulosa* under laboratory conditions. En P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jaspers & F. Ollevier (eds), *Spec. Publ. European Aquacult. Soc.*, 15, Gent, Bélgica: 349-351.
- Farmer, A. S. D. 1974. Reproduction in *Nephrops norvegicus* (Decapoda, Nephropidae). *J. Zool.*, 174: 161-183.
- Gabe, M. 1968. *Techniques Histologiques*. Masson et Cie., Paris, France, 1113 pp.
- Kurata, H. 1959. Studies on the larva and post-larva of *Paralithodes camtschatica*. I. Rearing of the larvae, with special reference to the food of the zoeae. *Bull. Hokkaido Reg. Fis. Res. Lab.*, 20: 76-83.
- Jensen, G. C. & Armstrong, D. A. 1989. Biennial reproductive cycle of blue king crab, *Paralithodes platypus*, at the Pribiloff Islands, Alaska and comparison to a congener, *Paralithodes camtschatica*. *Can. J. Fish. Aq. Sci.*, 46 (6): 932-940.
- Lovrich, G. A. & Vinuesa, J. H. 1993. Reproductive biology of the false southern king crab (*Paralomis granulosa*, Lithodidae) in the Beagle Channel, Argentina. *Fish. Bull., U.S.*, 91: 664-675.
- MacLoughlin, P. 1980. Internal anatomy. En D. Bliss (ed) *The biology of Crustacea*. Academic Press, 5: 1-10.
- Matsuura, S., Takeshita, K., Fujita, H. & Kawasaki, S. 1971. Reproduction and fecundity of the female king crab, *Paralithodes camtschatica* Tilesius, on the waters off western Kamtchatka. I. Observations on the ovarian eggs and the spawned eggs attached to pleopods. *Bull. Far Seas Res. Lab.*, 5: 147-159.
- Otto, R. & Cummiskey, P. 1985. Observa-

J. Vinuesa & M. Labal de Vinuesa: Gametogénesis en centolla.

- tions on the reproductive biology of golden king crab (*Lithodes aequispina*) in the Behring Sea and Aleutian Islands. En Proc. Int. King Crab Symp., Anchorage, Alaska. Lowell Wakefield Fish. Symp. Ser.: 123-135.
- Otto, R. & MacIntosh, R. 1996. Observations on the biology of the lithodid crab *Paralithodes spinosissima* from the Southern Ocean near South Georgia. En High latitude crabs. Biology management and economics. Lowell Wakefield Fish. Symp. Ser.: 627-648.
- Oyarzun, G. S. & Latorre, V. 1997. Lecitotrofismo en larvas de *Lithodes santolla*. Res. Seminario—Taller Internacional IBMANT'97, Punta Arenas, Chile, 7-11 de Abril: 59.
- Paul, J. M. & Paul, A. J. 1990. Breeding success of sublegal size male red king crab *Paralithodes camtschatica* (Decapoda, Lithodidae). J. Shellfish. Res., 9: 29-32.
- Sapelkin, A. A. & Fedosev, V. Y. 1978. Anatomical and histological structure of the sexual system of the male king crab, *Paralithodes camtschatica*. Biologiya Morya, 6: 47-53.
- Sapelkin, A. A. & Fedosev, V. Y. 1980. Spermatogenesis in the king crab. Biologiya Morya, 2: 57-61.
- Sapelkin, A. A. & Fedosev, V. Y. 1986. Formation of spermatophores and accumulation of sex products in the male king crab, *Paralithodes camtschatica*. Biologiya Morya, 3: 34-38.
- Somerton, D. A. 1981. Contribution to the life history of the deep sea king crab, *Lithodes couesi*, in the Gulf of Alaska. Fish. Bull., U. S., 81: 259-269.
- Somerton, D.A. & MacIntosh, R. A. 1983. The size at sexual maturity of blue king crab, *Paralithodes platypus*, in Alaska. Fish. Bull., U. S., 81: 621-628.
- Vinuesa, J. H. 1982. Biología de la reproducción y el desarrollo embrionario y larval de la centolla, *Lithodes antarcticus*, en el Canal Beagle, Tierra del Fuego. Tesis Fac. Cs. Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 144 pp.
- Vinuesa, J. H. 1984. Sistema reproductor, ciclo y madurez gonadal de la centolla (*Lithodes antarcticus*) del Canal Beagle. Contr. Inst. Nac. Invest. Des. Pesq. (Seg. Parte), 441: 73-95.
- Vinuesa, J. H. 1987. Embryonary development of *Lithodes antarcticus* Jacquinet (Crustacea, Decapoda, Lithodidae). Developmental stages, growth and mortality. Physis, Buenos Aires, 45: 21-29.
- Vinuesa, J. H., Lovrich, G. A. & Comoglio, L. I. 1991. Madurez sexual y crecimiento de la hembra de centolla *Lithodes santolla* (Molina, 1782) en el Canal Beagle. Biota, Osorno (Chile), 7 (1-2): 7-13.
- Wallace, M. M., Pertuit, C. J. & Hvatum, A. R. 1949. Contribution to the biology of the king crab, *Paralithodes camtschatica*. U. S. Fish. Wildlife Leaflet, 340, 50 pp.



**CULTIVO EXPERIMENTAL DE LA AGARIFERA
GRACILARIA GRACILIS (GRACILARIALES, RHODOPHY-
TA) EN GOLFO NUEVO, ARGENTINA**

**Experimental cultivation of the agarophyte *Gracilaria
gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) in golfo Nuevo,
Argentina**

Graciela N. Casas y María L. Piriz

Centro Nacional Patagónico (CONICET). Bvd. Alte. Brown s/n. 9120
Puerto Madryn, Chubut, Argentina.

RESUMEN

El objetivo del trabajo es comprobar la posibilidad de incrementar la biomasa disponible de *Gracilaria*, única especie que se utiliza en nuestro país como materia prima para la fabricación de agar, probando técnicas de cultivo adecuadas en golfo Nuevo. Se plantearon dos sistemas de cultivo con diferentes frecuencias de cosecha, utilizando algas de una pradera de caleta Sara, ubicada aproximadamente a 350 km al sur de Puerto Madryn. En una primera etapa (1993-94) se realizaron pruebas de plantado directo y cuerdas de fondo, con una densidad inicial de 1 kg m⁻² y cosechas manuales cada 30, 60 y 90 días. En la segunda etapa (1994-95), se repitió la metodología de plantado, pero las parcelas culti-

vadas se sometieron a cosechas manuales mensuales y bimestrales, estas últimas en series alternadas. Los valores finales de la etapa 1993-94 mostraron un rendimiento de 126,25% para el sistema directo y 153% para el de cuerdas; en la segunda etapa (1994-95) se obtuvieron 209,42% y 70,44%, respectivamente. Como resultado de las experiencias se determinó que el sistema directo puede resultar más productivo que el de cuerdas de fondo, lográndose el establecimiento de una pradera artificial. Asimismo, el espaciamiento entre cosechas, no debería ser mayor de 60 días dado que con esta frecuencia se puede lograr un rendimiento semejante al de cosechas mensuales pero con menos costo de mano de obra evitando pérdidas de biomasa por desprendimiento; siendo las épocas más significativas para la producción septiembre-noviembre y febrero-marzo. En las localidades donde se detecte la aparición estacional de epifitismo, se recomienda realizar una cosecha con anterioridad.

Palabras clave: *Gracilaria*, cultivos, agarofitas, golfo Nuevo, Argentina.

ABSTRACT

The objective of this work is to test the possibility of increasing the available biomass of *Gracilaria* in golfo Nuevo, Chubut (Argentina). This species is used in our country as raw material for the manufacture of agar. Two cultivation systems and different harvesting frequencies were carried out using *Gracilaria* from the caleta Sara beds, about 350 km from Puerto Madryn City. In the first stage (1993-94) direct planting and bottom long-lines were tested, the initial density was 1 kg m⁻² and manual harvesting frequencies every 30, 60 and 90 days were performed. In the second stage (1994-95) the same planting methodology was used, but the cultivated areas were monthly and bimonthly harvested, these last in alternated series. The *Gracilaria* biomass yield in 1993-94 was 126,25% for Direct Planting and 153% for Long-Lines; in 1994-95 it was 209,42% and 70,44% each one. It can be pointed out that the Direct Planting is more productive than Bottom Long-Line, being achieved the establishment of an artificial bed. The harvesting frequencies, preferably during September - November and in February - March should not be longer than 60 days; in this way the biomass loosening and the epiphitism can be avoided.

Key words: *Gracilaria*, field cultivation, agarophytes, golfo Nuevo, Argentine.

INTRODUCCION

Gracilaria gracilis (Stackhouse) Steentoft, Irvine et Farnham es la única especie que se utiliza en Argentina como materia prima para la fabricación de agar, coloi-de que tiene aplicación en la industria alimentaria.

La producción nacional de agar alcanza a cubrir las demandas del mercado interno, quedando un remanente exportable. En 1994, por ejemplo, se recolectaron más de 3000 ton de *Gracilaria*, produciéndose 231 ton de agar (Dirección de Intereses Marítimos y Pesca Continental de la Provincia del Chubut, Estadística 1994). Ese año se exportaron 49 ton de este producto, significando un ingreso de más de un millón de dólares (Dirección de Economía Agraria y Asuntos Internacionales, *in litt.*).

Hasta el presente, la legislación vigente no autoriza la cosecha directa a partir de poblaciones naturales, sino que se aprovechan solamente las plantas que el mar arroja a la costa (arribazones). Si bien no existe legislación que reglamente la práctica del cultivo, de hecho ya se han realizado ensayos en algunas concesiones provinciales (Piriz & Casas, 1995).

Las praderas sujetas a explotación en Argentina, están restringidas a bahías reparadas en el sur de la provincia de Chubut. Si bien existen otras poblaciones de *Gracilaria*, por su baja densidad no son

aptas para su explotación.

En la actualidad, las arribazones se recogen y procesan en su totalidad. Las características fluctuantes de este fenómeno y la necesidad de aumentar la producción han llevado a los permisionarios a consultar a los órganos de control acerca de la posibilidad de ejercer algún tipo de extracción del recurso directamente del mar.

Como resultado de esta inquietud, el sector privado está realizando en forma experimental ya sea con técnicas manuales o ayudados por maquinarias, extracciones de biomasa suelta que no arriba naturalmente a las playas (Piriz & Casas, 1995).

Es conveniente tener siempre presente la experiencia de Chile, donde la cosecha indiscriminada produjo un decaimiento en la producción, que en algunas localidades resultó en una pérdida casi total de la biomasa de algas. Esta situación sólo se pudo solucionar regulando la extracción e introduciendo, desde la década del 70, la práctica de cultivos en gran escala aprovechando la amplia distribución latitudinal que presenta *Gracilaria* en ese país. Actualmente Chile lidera la producción de agar mundial y prácticamente todo lo producido proviene de áreas de cultivo (Santelices, 1996).

Por todo lo expuesto, se consideró interesante emprender experiencias de cultivo en un área como el golfo Nuevo, a fin de comprobar si era posible incre-

mentar la biomasa disponible de *Gracilaria gracilis* y poder establecer técnicas adecuadas para hacer frente a una hipotética caída en la producción natural de un recurso que abastece a una industria local.

La elección del lugar se basó en la existencia de poblaciones de esta especie que si bien no están sujetas a explotación comercial, se asumió que las condiciones ambientales eran adecuadas para el desarrollo de un cultivo.

Los principales objetivos de este trabajo fueron poner a prueba el rendimiento de dos sistemas de cultivo como son el plantado directo y cuerdas de fondo, así como la periodicidad óptima de cosechas.

Las autoras agradecen la colaboración prestada por el Tec. Hugo García en las tareas de buceo y las sugerencias aportadas durante el desarrollo del proyecto; a Soriano S. A. por los análisis de agar y a la Lic. Cecilia Eyra por la lectura crítica del manuscrito.

El presente trabajo fue financiado por el Consejo Provincial de Ciencia y Técnica de Chubut y la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.

MATERIAL Y METODOS

Preparación de los sistemas de cultivo

La materia prima para el cultivo, alrededor de 500 kg de algas

húmedas, se recolectó mediante buceo autónomo en una pradera de caleta Sara, localizada aproximadamente a 350 km de Puerto Madryn (fig. 1). El material se trasladó de inmediato hasta los laboratorios del Centro Nacional Patagónico, cubierto con bolsas de arpillera humedecidas para evitar su desecación.

A su llegada, se seleccionaron las algas eliminando las epífitas y animales acompañantes y se procedió a preparar el sistema de **plantado directo**, pesando individualmente 300 manojos de plantas de 200 g cada uno, totalizando 60 kg. Los manojos se colocaron en bolsas de polietileno con 5 manojos (1 kg de alga) por bolsa.

Para el sistema de **cuerdas de fondo**, se ataron 5 manojos de 200 g cada uno, por metro lineal, a lo largo de cabos de polipropileno de 5 m. Se prepararon 12 sogas con 5 kg de algas en cada soga, las cuales se colocaron en bidones con abundante agua de mar y burbujeo de aire. En estas tareas intervinieron 4 personas durante 8 horas.

Esquema de Plantado

Al día siguiente de la preparación, se llevaron las plantas acondicionadas al sitio de cultivo en la bahía Nueva, frente a la ciudad de Puerto Madryn (42° 46' S; 65° 02' W), a una profundidad

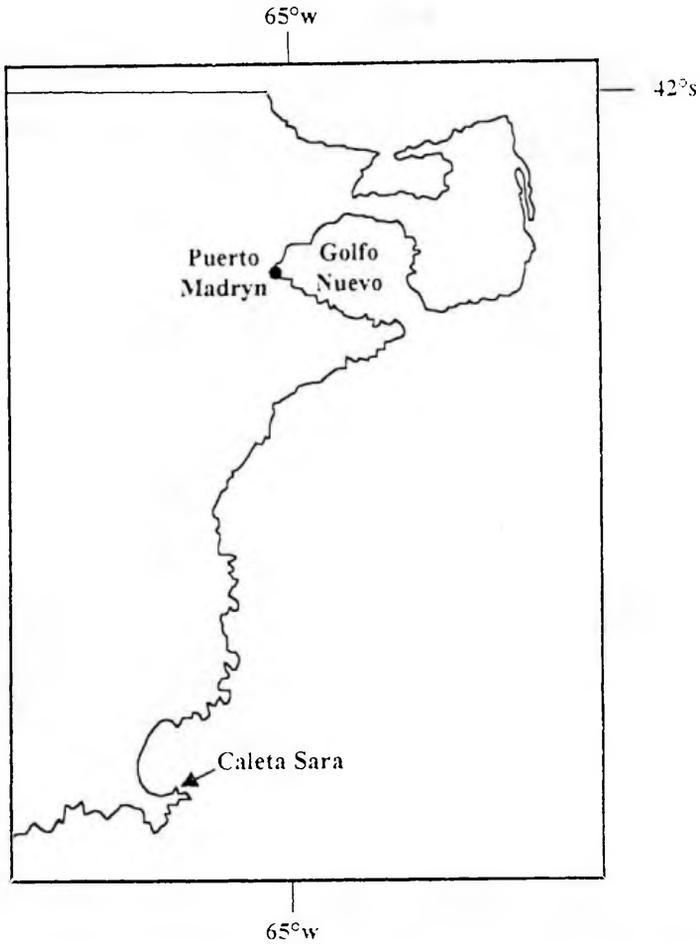


Figura 1: Ubicación de la pradera de recolección y del área donde se realizaron las experiencias.

de 6 m en marea media (fig. 1).

Para realizar el plantado directo, los buzos enterraron parcialmente los manojos de 200 g por su parte media, con horquillas de hierro de 44 cm de largo total y 8 cm de largo en la porción de la horquilla (fig. 2).

Utilizando como guía un marco metálico de 1 m de lado, se plantaron dentro de éste 5 manojos, de manera de establecer una densidad de 1 kg m^{-2} y procurando que la porción emergente de alga fuera por lo menos de 20 cm.

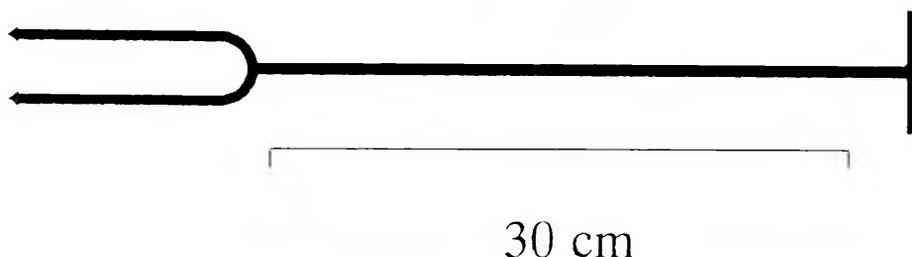


Figura 2: Herramienta utilizada para el enterramiento parcial de los talos de *Gracilaria gracilis* en el sistema de cultivo por plantado directo.

Sobre la base de este esquema se plantaron 6 parcelas de 10 kg cada una, en un área de 60 m² (fig. 3).

En el sistema de cuerdas de fondo las sogas se colocaron con una separación de 1 m entre ambas. Se sujetaron apoyadas en el fondo con estacas de hierro en los extremos y un soporte auxiliar en su parte media, para evitar que actúen como barrera de contención para otras algas sueltas y facilitar su embancamiento.

Con las metodologías de plantado descritas se llevaron a cabo dos experiencias. La primera se inició en julio de 1993 y la segunda en junio de 1994. En las tareas de instalación de los cultivos en el mar, en ambos casos, trabajaron 3 buzos y una persona de apoyo desde el bote.

En todos los casos la cosecha se realizó cortando los talos de tal forma que quede una porción sin cortar de la altura de un puño (aproximadamente 20 cm).

Primera experiencia (1993-1994)

A los dos meses de establecido el cultivo (septiembre de 1993), se realizó un corte a todos los sistemas por igual, con tijera de esquila, para homogeneizar la biomasa inicial. Para ello intervinieron 2 buzos con apoyo desde el bote, durante dos horas y media.

A partir de ese primer corte se seleccionaron parcelas de plantado directo y cuerdas las cuales fueron sometidas a distintos intervalos de cosecha (fig. 3): A y B: cada 30 días, C y D: cada 60 días y E y F: cada 90 días. Para la realización de los cortes 2 buzos y 1 botero trabajaron durante 3 horas, salvo en la cosecha final donde se requirió la participación de un tercer buzo.

Se registró el peso húmedo de cada corte separando dos submuestras de cada uno de ellos, tomadas al azar, para evaluar el

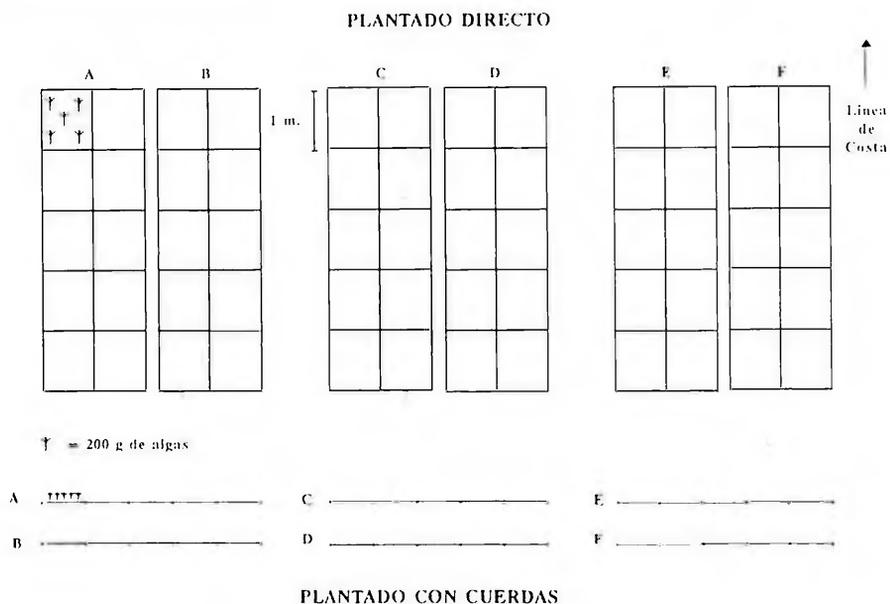


Figura 3: Esquema de plantado de los dos sistemas de cultivo.

grado de epifitismo a lo largo de la experiencia.

Segunda experiencia (1994-1995)

Las cosechas se iniciaron en julio de 1994, un mes después de establecido el cultivo. En ambos sistemas (directo y cuerdas) se cosecharon manualmente dos parcelas cada 30 días (A y B), en tanto las cuatro restantes se cosecharon cada 60 días, iniciándose la recolección en dos de ellas en el mes de agosto (C y D) y las dos restantes (E y F) en octubre. Las cosechas se continuaron hasta junio de 1995.

Se registró peso húmedo del material recolectado en cada parcela, el cual se dejó secar a temperatura ambiente para un posterior análisis de rendimiento y calidad de agar. Dichos análisis fueron realizados mediante proceso industrial en los laboratorios de la Empresa Soriano S.A.. La viscosidad y el pH se midieron sobre una solución al 1,5% a 65 °C, la resistencia de gel sobre la gelatina resultante a 20 °C.

RESULTADOS

En la primera experiencia (1993-1994) se efectuaron siete

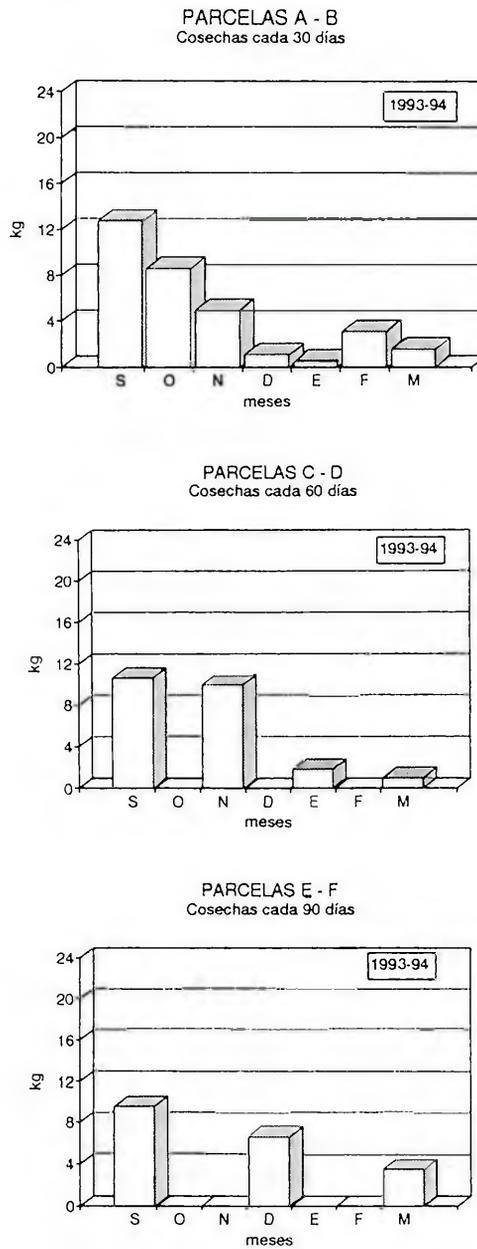


Figura 4: Rendimiento en biomasa húmeda mediante Plantado Directo, etapa 1993-94.

cosechas con un rendimiento total, como porcentaje de biomasa húmeda obtenida respecto de la biomasa inicial plantada, de 126,25% en el plantado directo y 153% en el sistema de cuerdas de fondo.

Si tomamos en cuenta la biomasa obtenida en todos los cortes, el sistema de cuerdas de fondo mostró mayor rendimiento (fig. 4 y 5), observándose también que la producción fue decayendo en ambos sistemas a lo largo del tiempo, siendo esto más evidente en el sistema de cuerdas.

En la segunda experiencia (1994-1995) que aparece como la más productiva en biomasa (fig. 6 y 7) se realizaron 10 cosechas, con un rendimiento total de 209,42% en el plantado directo y 70,44% en las cuerdas de fondo.

Para facilitar la comparación, se calculó el rendimiento promedio mensual en cada experiencia y para cada sistema de cultivo. Los resultados obtenidos para la primera experiencia son: 9,47 kg/mes en el plantado directo y 11,46 kg/mes en el sistema de cuerdas, mientras que para la segunda experiencia los valores resultaron ser 10,47 kg/mes y 3,52 kg/mes, respectivamente.

Salvo los valores evidentemente más bajos del sistema de cuerdas de la segunda experiencia, los otros tres casos presentan rendimientos similares. Esto se visualiza claramente en el gráfico de los rendimientos finales para

cada parcela, expresados como porcentaje de biomasa cosechada respecto de la biomasa inicial (fig. 8).

El sistema de cuerdas en ambas experiencias, dio valores altos en los primeros meses, pero la caída de biomasa fue más rápida llegando incluso a la pérdida total de plantas.

Con respecto al rendimiento obtenido según la periodicidad de cosechas, los resultados variaron en ambas experiencias desarrolladas, dependiendo del sistema de plantado.

En los cultivos de plantado directo en la primera experiencia, hubo un rendimiento ligeramente mayor en las cosechas mensuales. Cortando cada 30 días se estimó un rendimiento de 32,7 kg; cortando cada 60 días se obtuvieron 23,5 kg y 19,7 kg cuando los cortes se hicieron cada 90 días.

Con el método de cuerdas de fondo, sigue prevaleciendo ligeramente el corte mensual: 35,5 kg y son semejantes para los cortes realizados cada 60 días: 28,7 kg y cada 90 días: 27,6 kg.

En la segunda experiencia los valores para el plantado directo resultaron más uniformes aún: 45,1 kg en las cosechas mensuales; 47,1 kg y 33,6 kg en las series bimestrales, este último valor corresponde a los cortes iniciados en octubre.

Con las cuerdas de fondo la diferencia es mayor, los cortes mensuales produjeron 21,6 kg y

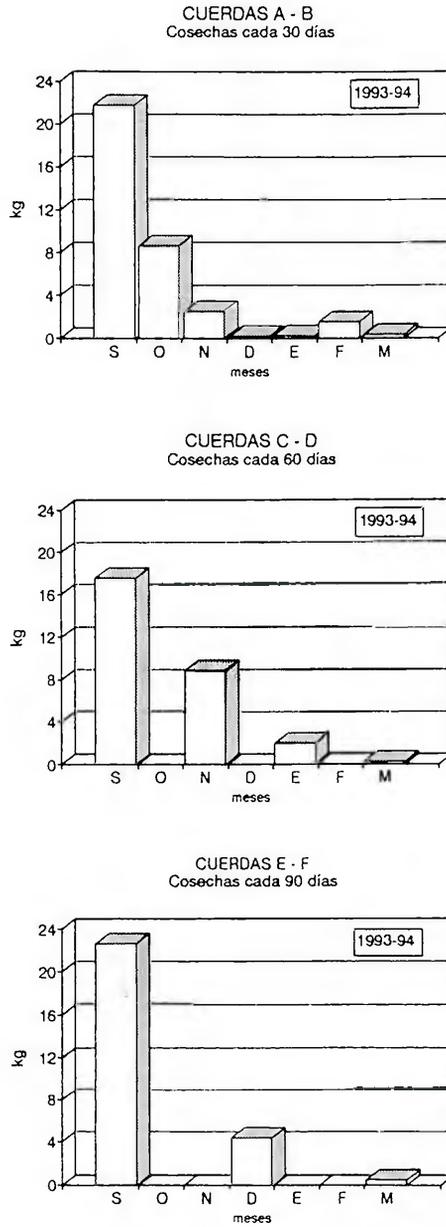


Figura 5: Rendimiento en biomasa húmeda mediante Plantado con Cuerdas, etapa 1993-94.

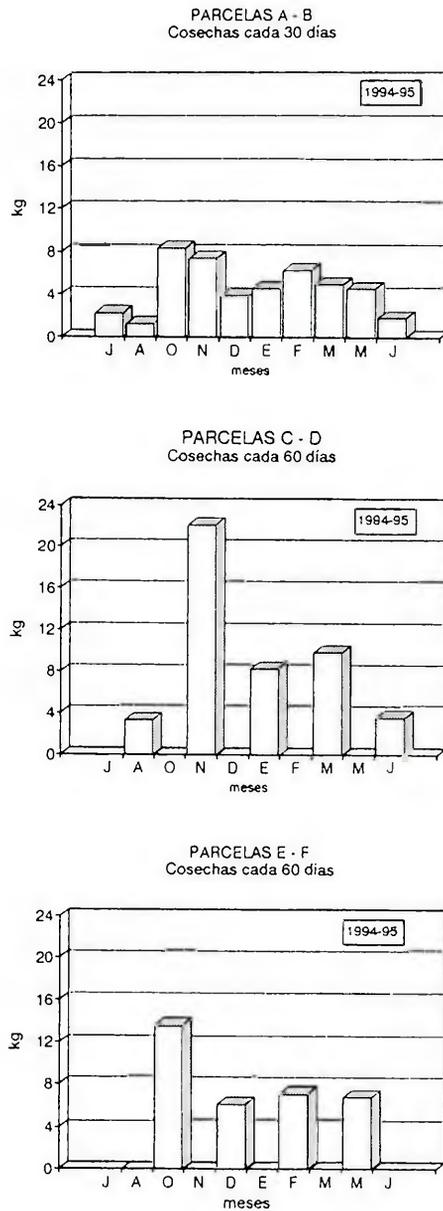


Figura 6: Rendimiento en biomasa húmeda mediante Plantado Directo, etapa 1994-95.

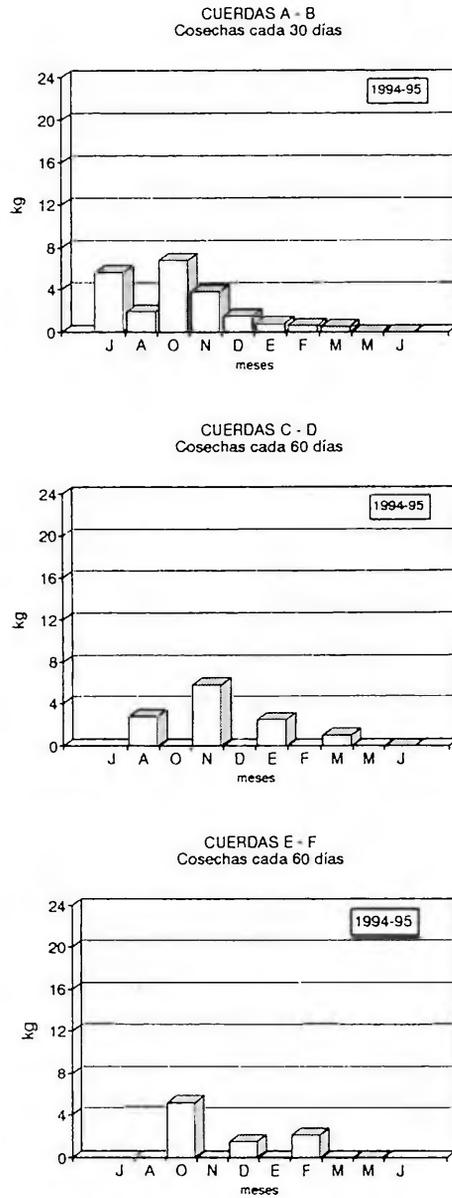


Figura 7: Rendimiento en biomasa húmeda mediante Plantado con Cuerdas, etapa 1994-95.

los bimestrales 11,9 kg y 8,8 kg en cada una de las series realizadas. El rendimiento del cultivo con cuerdas fue más bajo que en la primera experiencia y a partir de abril, la pérdida de plantas fue total.

Al final de la segunda experiencia, se comparó el área cultivada por plantado directo con el esquema original, verificándose pérdidas parciales de biomasa que alcanzaban un 42% de la superficie total plantada.

Los resultados obtenidos en los análisis de rendimiento y calidad de agar, son los normales para un producto de buena calidad (Tabla 1).

A lo largo de toda la experiencia las plantas de *Gracilaria* presentaron un bajo nivel de epifitismo. Las especies de algas más frecuentes fueron *Polysiphonia* spp, *Ulva lactuca*, *Dictyota* aff. *dichotoma*, *Ceramium rubrum* y *Ectocarpus* sp.

Durante el período septiembre de 1993 a marzo de 1994, se realizó el control específico observándose que el porcentaje de biomasa representado por organismos epífitos fue menor del 20% entre septiembre y enero. En febrero se produjo un aumento importante debido a una floración de *Ectocarpus* sp. que llegó a representar el 60% de la biomasa y que sólo se registró en ese mes, desapareciendo como especie acompañante significativa al mes siguiente. En el mes de marzo el

40% de epífitos en las muestras se debió principalmente a un asentamiento de pequeñas ascidias coloniales, no observándose diferencias de epifitismo, ya sea en composición como en cantidad, entre los métodos de siembra ni entre frecuencias de cosecha.

DISCUSION

El cultivo realizado por el plantado directo ofrece buenas posibilidades para establecer praderas artificiales de *Gracilaria gracilis* en los fondos arenosos de golfo Nuevo, que era el principal objetivo que se perseguía con estas experiencias. En todos los ensayos, con el sistema de plantado directo se logró el establecimiento de una pradera artificial.

Haciendo una proyección de los valores obtenidos en 60 m² mediante sembrado directo, el rendimiento que se obtendría por hectárea sería de aproximadamente 21 toneladas húmedas de *Gracilaria* por año.

La época más productiva, en la cual se obtuvo mayor biomasa durante las cosechas, se corresponde en todos los casos con la primavera, especialmente septiembre a noviembre aunque se registra otro pico, pero bastante menor, a fines del verano (febrero-marzo).

En esta época hay un ligero repunte de la biomasa cosechable de *Gracilaria*, luego del periodo de

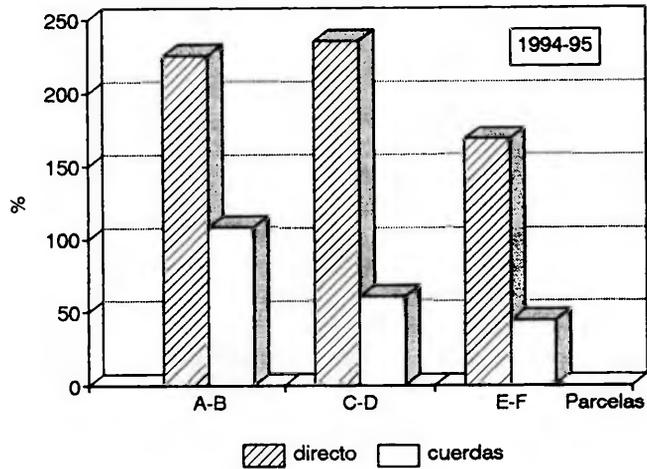
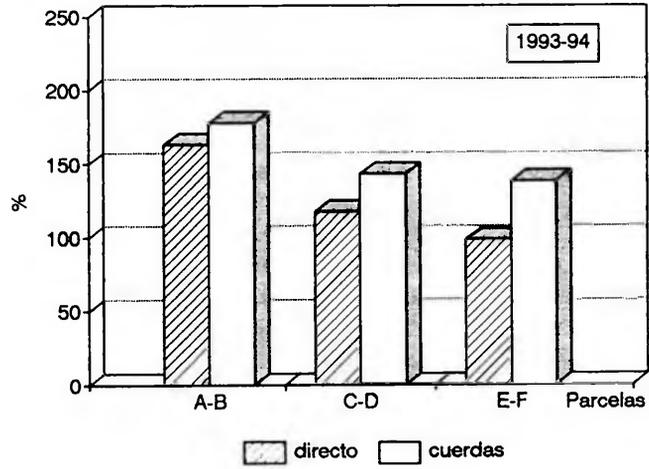


Figura 8: Rendimientos finales expresados como porcentaje de biomasa cosechada respecto de la biomasa inicial.

Tabla 1: Análisis químico de *Gracilaria gracilis* cultivada en golfo Nuevo (Chubut). cps: centipois.

	nov 94	dic 94	ene 95	feb 95	mar 95	may 95
Humedad (%)	7,6	7,3	10,0	10,0	10,2	10,0
Impurezas (%)	35,5	34,4	31,3	33,1	26,2	22,8
Algas puras (%)	56,9	58,3	58,7	56,7	63,6	67,2
Rendimiento (%)	21,8	18,4	21,8	19,8	21,3	20,5
Viscosidad (cps)	86	46	310	470	160	490
pH	7,0	6,6	6,9	7,0	7,3	7,5
Resistencia gel(g/m²)	1070	1120	1130	1280	1280	1230

mayor rendimiento de primavera, en el cual las algas cosechadas en nuestros ensayos presentaban un excelente nivel de calidad. A fin del verano los cultivos comienzan a decaer, posiblemente por influencia de factores abióticos.

El mayor rendimiento obtenido en la segunda experiencia pudo haber sido consecuencia de algunas modificaciones metodológicas, por ejemplo: la instalación de los cultivos un mes antes que en la primera experiencia, la iniciación de las cosechas transcurridos sólo 30 días después del plantado y el reemplazo del corte con tijera por corte manual. Los dos primeros factores significaron una extensión de la temporada de cultivo y el tercero favoreció el crecimiento

ya que el corte manual, si bien es más laborioso, deja mayor cantidad de ápices en condiciones de rebrotar.

Si se toman en cuenta algunas experiencias realizadas en Chile, Alveal (1988) obtuvo en cultivos realizados en estuario un incremento total final entre 169 y 227%, luego de 6 meses de ensayos con método de plantado directo. Si bien nuestros resultados se encuentran dentro de este rango, esto se ha logrado manteniendo los cultivos durante más tiempo (8 y 12 meses). Asimismo, hemos podido comprobar que con este método es factible el repoblamiento de praderas cuando se observen pérdidas de biomasa o deterioro de los talos.

A efectos de lograr un mayor rendimiento y favorecer el establecimiento de la pradera, no sólo hay que aprovechar la época en que las plantas tienen un crecimiento más activo (primavera), sino que además conviene hacer podas con cierta frecuencia. Mantener el cultivo durante mucho tiempo no parece estar recompensado con un incremento proporcional en la producción, ya que pasados los primeros meses de activo crecimiento el rendimiento de las cosechas decae. No es recomendable espaciar los cortes más de 60 días porque el desarrollo de plantas muy grandes hace que se facilite su rotura y desprendimiento, desaprovechándose esa biomasa.

Esto se comprobó en una experiencia preliminar también llevada a cabo en golfo Nuevo, en la que la parcela testigo que se dejó sin cortar durante los 8 meses que duró el ensayo, arrojó un rendimiento de sólo el 36,5% contra 145,5 y 138,5% logrado en las parcelas sometidas a cortes periódicos manuales y con tijera respectivamente (Casas & Piriz, 1993).

En el norte de Chile se cosecha con periodicidad mensual y el rendimiento es relativamente parejo a través del año. En el sur las empresas también cosechan en forma mensual, pero los pequeños productores prefieren hacerlo a partir de septiembre-octubre extendiéndose en algunas áreas

hasta marzo. La mayor productividad chilena en el norte y sur se da durante la primavera y verano, aunque en el sur la temporada es de menor duración. La cosecha, tanto de cultivos submareales como intermareales, se hace en forma manual (IFOP, 1994).

En las experiencias realizadas en golfo Nuevo mediante el sistema de cuerdas de fondo, se observa un pico de biomasa en las primeras cosechas, considerablemente mayor que el registrado con el sistema de plantado directo. Esto puede atribuirse a la falta de enterramiento inicial de las cuerdas, quedando una porción de algas libres para el corte, mayor que en el plantado directo.

La imposibilidad de poder producir un sistema postrado hace que esta metodología no resulte adecuada para el establecimiento definitivo de una pradera de *Gracilaria* en sustratos con las características de los existentes en golfo Nuevo.

El sistema de cuerdas produce en general, valores cercanos a los obtenidos por el otro método, pero el decaimiento en biomasa es muy rápido, lo que en definitiva se traduce en un bajo rendimiento total, corroborando de este modo las observaciones realizadas en ensayos preliminares en golfo Nuevo (Casas & Piriz, 1993).

Poblete & Becerra (1988) realizaron en Chile experiencias con cuerdas informando pérdidas de casi un 30% de biomasa en

parcelas que permanecieron 4 meses sin cortar. Según los autores citados esta pérdida es explicable dado que el alga cuando alcanza una cierta longitud, se corta por efecto de la resistencia que ofrece a la corriente de agua.

El IFOP - Chile (1994) indica que si bien las plantas tienen altas tasas de crecimiento en los primeros meses, luego se produce necrosis de los talos en el punto de contacto con la cuerda madre, causando pérdidas importantes de biomasa. Este sistema, según el citado informe, se ha usado sólo en forma experimental en centros de cultivos comerciales.

En nuestros cultivos no se presentaron problemas de epifitismo severos que afectaran la calidad de *Gracilaria*, como suele suceder en las praderas explotadas comercialmente. Posiblemente la poda periódica controlada de nuestros ensayos dificultó la fijación.

En Chile el epifitismo puede deprimir significativamente la producción de *Gracilaria*. Estas especies de algas causan problemas preferentemente durante la época de primavera-verano que es la estación más productiva. El modo de enfrentar el epifitismo varía de acuerdo a las especies. Algunos alqueros chilenos han aumentado la profundidad de los cultivos, de manera de evitar la aparición de especies no deseadas. Otros cosechan antes que aparezcan los epifitos y en la zona

norte, para eliminar la presencia de algas pardas del tipo *Ectocarpus*, se coloca el "pelillo" recién cosechado en piscinas oscuras por 2-3 días o bien se limpia después de la cosecha (IFOP, 1994).

La interferencia con *Desmarestia* en praderas naturales de bahía Concepción (Chile) o con *Ulva* y con poliquetos, puede llegar a ser tan negativa que anula o disminuye sensiblemente el desarrollo del recurso. Praderas enteras de *Gracilaria chilensis* cultivadas fueron inhabilitadas por el fuerte epifitismo de *Giffordia sp.* cuando cubrían 3 ha de superficie (Alveal, 1995).

En Chiloé, las epifitas representan un gran problema, alcanzando densidades de hasta 500 g m⁻² (Matamala & Sanhueza, 1988).

En las praderas comerciales de Argentina, en Bahía Bustamante, se mencionan como especies oportunistas *Ceramium sp.*, *Polysiphonia sp.* y *Ectocarpus sp.* en las poblaciones que crecen en poca profundidad (Piriz & Casas, 1995). El crecimiento explosivo de cualquiera de ellas puede llegar a bajar la calidad del alga cosechada. Esto sucede generalmente en los meses del verano, que es la época en que se ve favorecido el epifitismo ya que el aumento de horas de luz contribuiría al rápido crecimiento de algas oportunistas (Casas *et al.*, 1997).

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos a lo largo de esta experiencia de cultivo se puede confirmar que el sistema de plantado directo es más productivo y más económico que el de cuerdas de fondo. Éste se encarece por el tiempo que lleva su implementación y la necesidad de usar materiales adicionales como sogas y estacas para su fijación.

Con el plantado directo se logró el establecimiento de una pradera artificial, mientras que el sistema de cuerdas no resultó apto para este propósito dado que los talos se desprenden antes de arraigarse en el sustrato. De todas maneras, el método de cuerdas es apropiado para períodos cortos, estimándose que sería adecuado únicamente para ensayos experimentales.

Durante el período estudiado se detectaron dos épocas significativas para la producción: septiembre-noviembre y febrero-marzo.

Las cosechas bimestrales pueden lograr un rendimiento semejante al de cosechas mensuales, abaratando los costos de mano de obra. Asimismo, el espaciamiento entre cosechas, no debería ser mayor de 60 días para evitar el desprendimiento y pérdida de biomasa.

En caso de pérdidas parciales de biomasa o deterioro de las plantas, es factible restablecer el

área sembrada replantando las porciones faltantes en las parcelas, a partir de plantas locales o mediante el traslado de ejemplares de praderas comerciales distantes. En este último caso, se comprobó que la técnica empleada para transportar *Gracilaria* a granel fue efectiva y no produjo deterioro del material.

En las localidades donde se detecte la aparición estacional de epifitas, se recomienda realizar una cosecha anticipada. De todas maneras, este fenómeno no afectó mayormente nuestros ensayos y se pudo observar el mejoramiento en la calidad de las algas transplantadas desde su pradera de origen a golfo Nuevo.

BIBLIOGRAFIA

- Alveal, K. 1988. *Gracilaria* de Tubul: Historia y significado de un recurso marino. *Gayana Bot.*, 45: 119-140.
- Alveal, K. 1995. Manejo de algas marinas. En K. Alveal, M. E. Ferrario, E. C. Oliveira & E. Sar (eds) *Manual de Métodos Ficológicos*. Univ. de Concepción, Chile: 825-863.
- Casas, G. N. & Piriz, M. L. 1993. Cultivo de *Gracilaria* en Golfo Nuevo (Argentina). Experiencias preliminares. Abstracts III Congreso Latinoamericano de Ficología. N° 166.
- Casas, G. N., Romanello, E. E. & García, H. 1997. Observaciones sobre el crecimiento y brotación de *Gracilaria gracilis* (Gracilariales,

G. Casas & M. Piriz: Cultivo de *Gracilaria*.

- Rhodophyta) en golfo Nuevo (Chubut, Argentina). *Naturalia patagónica, Ser. Ciencias Biológicas*, 5: 39-54.
- IFOP. 1994. El cultivo del pelillo. Estado de situación y perspectivas de la acuicultura en Chile. SGI-IFOP 94/1: 48-73.
- Matamala, M. & Sanhueza, M. 1988. Situación del recurso *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinaceae) en Quempillén, Chiloé - X Región. *Gayana Bot.*, 45: 423-429.
- Piriz, M. L. & Casas, G. 1995. Panorama de estudio de los recursos algales en Argentina. En M. Ferrario & E. Sa (eds) *Macroalgas de Importancia Económica*. Ed. de la Univ. Nac. de La Plata, Argentina, 47, N° 380, 2 y 3: 267-296.
- Poblete, A. & Becerra, R. 1988. Cultivo de *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gigartinaceae) en Puerto Saavedra: Una transferencia de tecnología hacia el subsector pesquero artesanal. *Gayana Bot.*, 45: 431-439.
- Santelices, B. 1996. Seaweed research and utilization in Chile: moving into a new phase. *Hydrobiologia* 326/327: 1-14.



**PRODUCCION DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS
N-3 DE LA MICROALGA MARINA *PHAEODACTYLUM
TRICORNUTUM* (BOHLIN).**

**Production of n-3 polyunsaturated fatty acids from the
marine microalga *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin).**

Enrique Rost (*), Alicia Rico (**), María Rosa Carstens (*), Susana
Perales (**) y Laura Pérez (**)

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Ciudad Universi-
taria Km 3, 9000 Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

(*) Departamento de Industrias, Facultad de Ingeniería.

(**) Departamento de Biología General, Facultad de Ciencias Naturales.

RESUMEN

El cultivo artificial de microalgas marinas ha tomado recientemente un especial interés como materia prima para la producción de ácidos grasos poliinsaturados n-3, debido a que éstos han demostrado poseer notables efectos en la salud humana. En este trabajo se presentan los resultados logrados en la obtención de ácidos grasos trabajando con *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin) en diferentes condiciones de cultivo. Los experimentos fueron realizados cambiando la intensidad de irradiación lumíni-

ca, el período de iluminación y la relación nitrógeno—fósforo (N/P). Se encontró una importante producción de ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) en condiciones de alta irradiación y relaciones N/P intermedias, mientras que la misma fue prácticamente insensible a la variación del período de iluminación.

Palabras clave: ácidos grasos poliinsaturados; ácido eicosapentaenoico; microalgas marinas; *Phaeodactylum tricorutum*.

ABSTRACT

The artificial culture of marine microalgae has attracted increased attention in the production of n-3 polyunsaturated fatty acids, in view of the important effects of these acids on human health. In this work a strain of *Phaeodactylum tricorutum* (Bohlin) was grown in different culture conditions, examining the production of fatty acids. The influence of three variables was analyzed: light intensity, period of light and nitrogen—phosphorous (N/P) relation in the culture medium. It was observed a high production of eicosapentaenoic acid (20:5n-3) at the highest irradiation levels and intermediate values of N/P. Furthermore, no remarkable influence was observed when the photoperiod was changed.

Key words: Polyunsaturated fatty acids, eicosapentaenoic acid, marine microalgae, *Phaeodactylum tricorutum*.

INTRODUCCION

Las microalgas marinas constituyen una importante fuente de alimentación animal y humana y, a su vez, sus aceites contienen ácidos grasos poliinsaturados (PUFA por su nombre en inglés) que son reconocidos como fármacos exitosos en el tratamiento de disfunciones fisiológicas y otras enfermedades del hombre.

Los beneficios que sobre la

prevención de enfermedades coronarias tienen las dietas ricas en pescado se conocen desde la década de los 50. Unos 30 años después, se demostró fehacientemente que la presencia de PUFA n-3 en el aceite de pescado es la causante de estos beneficios, en contraposición con los PUFA n-6 que se encuentran en las grasas y aceites de animales y vegetales superiores (Bang & Dyerberg, 1981; Mortensen *et al.*, 1983;

Dyerberg, 1986). Se ha demostrado también que los PUFA n-3 producen efectos altamente positivos en la prevención y el tratamiento del cáncer (Braden & Carroll, 1986; Reddy & Maruyama, 1986).

La fuente tradicionalmente conocida para la obtención de PUFA es el aceite de pescado. Pero se ha comprobado que los peces los adquieren al alimentarse del fitoplancton (que es el que los sintetiza), en forma directa o a través de la ingestión de otros peces, de acuerdo a la cadena alimenticia. El aceite de pescado, además, es empleado en la actualidad en el límite de su disponibilidad en otras industrias, como es la producción de margarinas vía hidrogenación. Es así, entonces, que el cultivo artificial de microalgas se constituye en una alternativa económica viable para la industria de la química fina. Esto es así también, por la interesante posibilidad que brinda esta alternativa tecnológica en orientar la producción hacia los productos finales deseados, por ejemplo, mediante la manipulación genética de las microalgas.

A los efectos de una óptima producción de microalgas en la dirección señalada, se debe en primer lugar poseer una cepa que permita mejorar la obtención tanto de biomasa como de los productos químicos deseados. Se trabaja con una especie aislada, buscando las mejores condiciones de cultivo

mediante el control de los parámetros ambientales y nutricionales. Este objetivo no es sencillo de alcanzar, debido al gran número de variables involucradas en cuanto a las condiciones de cultivo, y porque las características de la microalga pueden diferir apreciablemente de una cepa a otra dentro de una misma especie.

Por último, se deben desarrollar los procesos de separación y/o purificación de los compuestos finales buscados. Esta tarea tampoco es sencilla y no se pueden desarrollar criterios generales, debido a la variación de estructuras celulares entre las diferentes especies de microalgas. En las células vegetales los ácidos grasos están contenidos en los lípidos (en la forma de ésteres complejos de estos ácidos en combinación con otras moléculas similares). Debido entonces a que las sustancias deseadas se encuentran formando parte de la célula en forma protegida y estabilizada ante agentes externos, se estima también que puede ser importante no buscar una purificación total del producto, sino extraer determinadas fracciones en las que éste se encuentre en cantidad mayoritaria.

En este trabajo se presentan resultados obtenidos mediante el cultivo en volúmenes de laboratorio de una cepa disponible de la microalga *Phaeodactylum tricoratum* (Bohlin), explorando y analizando la influencia de algunos de

los parámetros que influyen en la producción de ácidos grasos y en particular de PUFA n-3. Esta especie es reconocida como una gran productora de ácido eicosa-pentaenoico (EPA). En las mejores condiciones de cultivo, se han podido observar valores importantes del contenido de estos compuestos en la biomasa, y en el caso del EPA, mayores a los informados en la bibliografía conocida.

El grupo principal de PUFA n-3 presentes en las microalgas se encuentra constituido por los ácidos linolénico 18:3n-3, eicosa-pentaenoico 20:5n-3 (conocido como EPA por su nombre en inglés) y docosahexaenoico 22:6n-3 (DHA). Los dos últimos se encuentran únicamente en los aceites de origen marino. Como se apreciará en los resultados de este trabajo, otros ácidos de este tipo aparecen en cantidades poco importantes, como el estearidónico 18:3n-3 (SA) y el 22:5n-3.

Dentro de las variables que fueron consideradas se encuentran por su importancia, en primer lugar, la intensidad de la luz y el período de incidencia de la misma (es decir discontinuo, con intervalos fijos de luz y de oscuridad alternados o bien continuo, con iluminación permanente).

La composición del medio de cultivo juega también un papel fundamental. Se emplea agua de mar enriquecida con varias sustancias proveedoras del nutriente

necesario para una adecuada multiplicación y desarrollo de la microalga (nitrógeno, fósforo, sodio, magnesio, sílice, vitaminas, etc.). Uno de los factores más importantes de los que intervienen en el medio de crecimiento es la relación nitrógeno-fósforo (Molina *et al.*, 1991).

Se agradece a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco por el apoyo otorgado.

METODOLOGIA

Cultivo de la microalga.

Para la formulación del medio de cultivo se siguió a Laing (1991). El agua de mar utilizada fue recogida en lugares de baja contaminación comprobada, mantenida en la oscuridad durante varios meses y luego convenientemente depurada con filtros millipore de 45 μm . El pH inicial se ajustó en todos los casos en 8. A su vez, para evitar la precipitación durante el proceso de esterilización por autoclave se agregaron 0,5 g de Tris por litro.

Durante el cultivo de los volúmenes correspondientes a los ensayos, se siguió la metodología descrita por Provasoli (1968) y McLachlan (1973), realizándose el repique de las algas obtenidas primeramente en pequeños volúmenes en medio Erdschreiber

líquido. Estos fueron mantenidos a 17°C y una relación 16:8 de iluminación-oscuridad. Para la medición de la intensidad lumínica se utilizó un luxómetro digital Yu Fung YF-1065. En una segunda etapa se realizó el cultivo en Erlenmeyers de 125 o 500 cm³ y finalmente en recipientes de 1000 y 2000 cm³. De acuerdo a experiencias previas en las que se comparó la velocidad de crecimiento a partir de diferentes inóculos (Rico *et al.*, 1995), se ajustó una concentración inicial de 5 10⁴ cel ml⁻¹, sobre la base de un cultivo en fase exponencial.

Los cultivos inoculados se ubicaron en cámara a 21°C, con renovación de aire e iluminación provista con tubos fluorescentes. El tiempo de cultivo, en base a las primeras experiencias efectuadas, fue fijado en 10 días.

El crecimiento se determinó periódicamente mediante un hemacitómetro de 0,1 mm de profundidad mejorado con regla de Neubauer. Se realizaron diluciones para facilitar el conteo en aquellos casos en que el número elevado de células lo requería (Guillard, 1973; Souring, 1978).

Extracción de ácidos grasos.

La biomasa cosechada se separó del medio de cultivo mediante centrifugación a 4000 rpm, secada a 36°C hasta pesada constante y finalmente mantenida a -18°C hasta el momento de su

procesamiento para la determinación de ácidos grasos. La cantidad de biomasa cosechada en cada lote ha sido del orden de 1 g.

La extracción de ácidos grasos se realizó en un recipiente agitado de dos litros de capacidad a partir de 15 a 20 mg de biomasa, por saponificación directa con una mezcla de alcohol etílico e hidróxido de potasio a 60°C durante 1 hora, hidrólisis con ácido clorhídrico 1:1 y extracción final con hexano. De acuerdo a un trabajo previo en el que se optimizó la técnica (Ibáñez *et al.*, 1998), la solución hidroetanólica de extracción se constituyó con las siguientes proporciones por cada gramo de biomasa: 76 ml de EtOH al 96% y 1,6 de KOH al 85%. El pH de la solución de extracción se ajustó entre 4 y 6.

Determinación de ácidos grasos

La determinación cuali y cuantitativa de ácidos grasos contenidos en la biomasa se realizó mediante cromatografía en fase gaseosa. Para ello conviene derivatizar previamente los mismos a sus formas metil-esterificadas. A este propósito, se optó por el método de transesterificación directa propuesto por Lepage & Roy (1986) con cloruro de acetilo/metanol (1:20 v/v). Este método incluye un proceso de "clean-up" de la muestra tratada, permitiendo partir directamente de la biomasa seca.

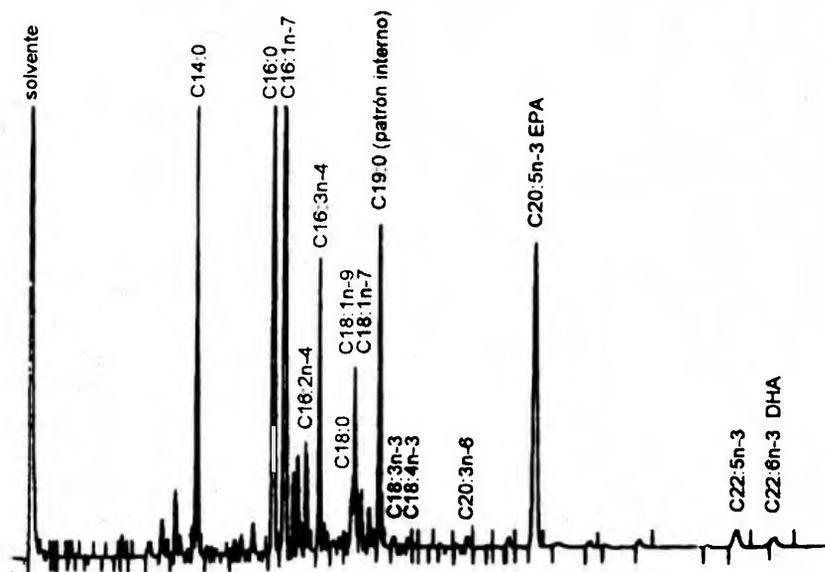


Figura 1: Cromatografía de ácidos grasos (esterificados) contenidos en la microalga, con identificación de los ácidos mayoritarios.

Se empleó un cromatógrafo Hewlett Packard 5890, equipado con detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar INNOWax de 30 m de longitud y 0,32 mm de diámetro. Se utilizó helio como gas portador. Se implementó el siguiente programa de temperatura de horno: temperatura inicial de 150 °C durante 3 minutos, rampa de 5 °C/minuto hasta 220 °C y permanencia en la temperatura final durante 30 minutos.

Para la cuantificación se empleó ácido nonadecanoico (19:0) de Sigma como patrón interno. Una cierta cantidad del mismo (aproximadamente 0,125 mg en 15 mg de biomasa deshidratada) se agregó a la muestra antes del proceso de esterificación de los ácidos. En algunos ensayos la cuantificación se hizo también determinando el peso total de ésteres obtenidos. Ambas técnicas dieron valores coincidentes cuando fueron comparadas.

Para la identificación de ácidos grasos se contó con una mezcla patrón certificada provista por Supelco. Se identificaron 17 ácidos, entre ellos el mirístico (14:0), el palmítico (16:0), el palmitoleico (16:1n-7), el esteárico (18:0), el oleico (18:1n-9), el linoleico (18:2n-7), el linolénico (18:3n-3), el estearidónico (18:4n-3), el eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3), el 22:5n-3 y el docosa-hexaenoico (DHA, 22:6n-3). En la Figura 1 se presenta uno de los cromatogramas obtenidos a modo de ejemplo, con indicación de los ácidos con mayor presencia.

Plan experimental.

El trabajo experimental se desarrolló analizando por separado las siguientes variables: intensidad lumínica, periodo de iluminación y relación nitrógeno-fósforo (N/P).

La intensidad de la irradiación lumínica fue probada a 2200, 4000 y 5150 lx. La relación N/P y el periodo de iluminación se mantuvieron constantes (N/P = 4 y 16:8).

La segunda variable analizada fue el periodo de iluminación, adoptándose iluminación intermitente con la relación luz-oscuridad clásica 16:8 e iluminación continua. La intensidad de iluminación y la relación N/P se mantuvieron constantes (5150 lx y N/P = 4).

Finalmente, se trabajó con tres relaciones distintas de nitró-

geno-fósforo (N/P) en el medio de cultivo: 4; 16 y 32 en base molecular, manteniendo constantes la intensidad de iluminación y su periodo de incidencia (5150 lux y 16:8). Para estos últimos ensayos, el medio de cultivo fue enriquecido en nitrógeno (agregado como nitrato sódico), manteniendo el contenido de fósforo (en forma de hidrato de fosfato sódico) de acuerdo a la formulación de Laing.

Para cada variable, los datos obtenidos fueron sujetos a un análisis de la varianza (ANOVA), previa comprobación de la homogeneidad de las varianzas mediante una prueba de Bartlett (Sokal & Rohlf, 1981), la cual en todos los casos dió por resultado que éstas eran homogéneas.

Excepto en el ANOVA referido a concentración de ácidos grasos a diferentes intensidades lumínicas donde se usaron cuatro réplicas por tratamiento, en los demás casos se contó con tres réplicas por tratamiento, cada una de las cuales fue a su vez el promedio de dos determinaciones.

En los casos donde se obtuvieron diferencias significativas se llevó a cabo una prueba de comparaciones no planeadas entre medias mediante el método T (Sokal & Rohlf, 1981).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

Con la cepa disponible se ha encontrado evidencia estadística

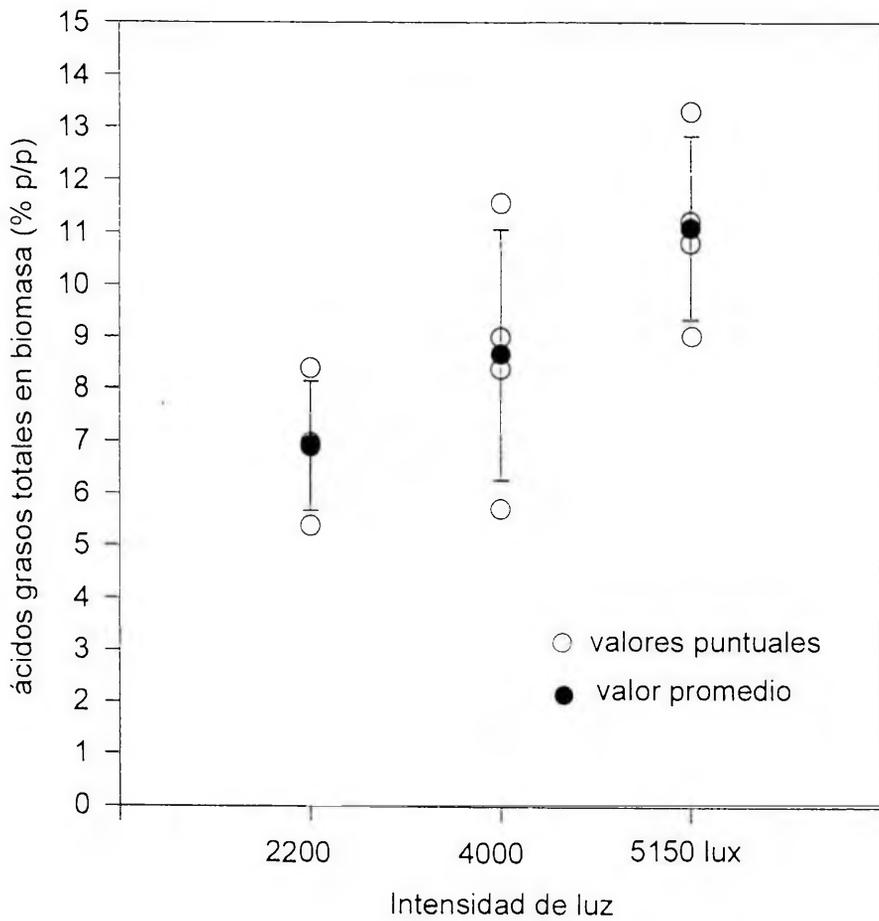


Figura 2: Influencia de la intensidad de la irradiación lumínica (2200, 4000, 5150 lx) sobre el contenido total de ácidos grasos (en % p/p sobre biomasa deshidratada). N/P= 4 y periodo 16:8.

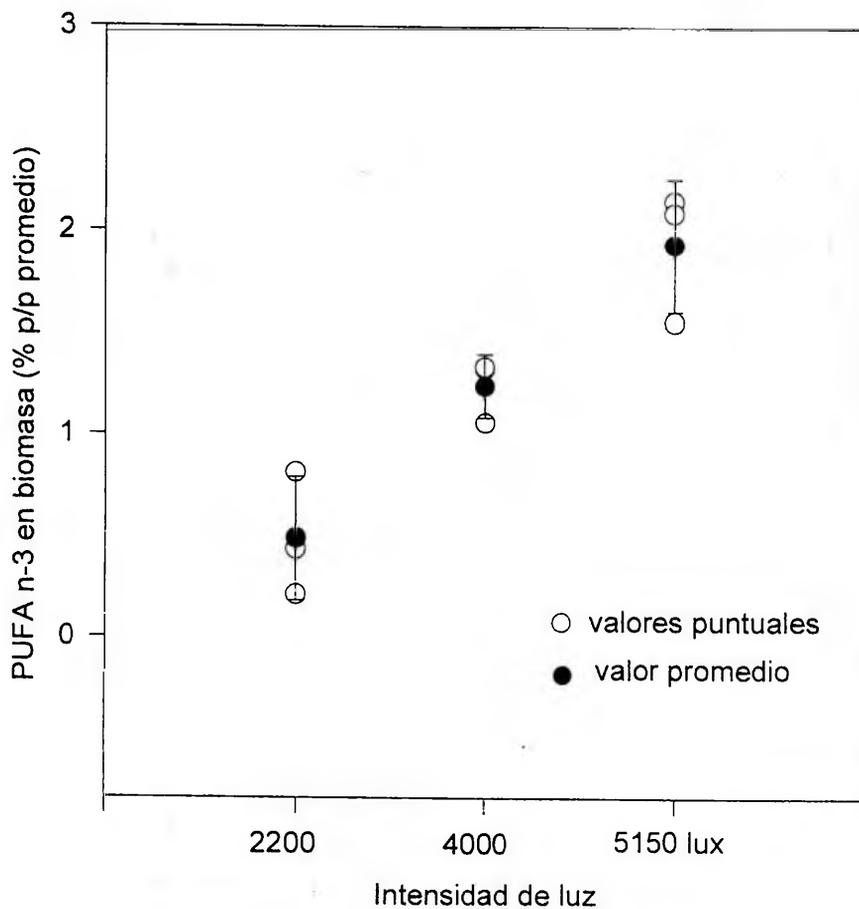


Figura 3: Influencia de la intensidad de la irradiación lumínica (2200, 4000, 5150 lx) sobre el contenido de PUFA n-3 (en % p/p sobre biomasa deshidratada). N/P = 4 y periodo 16:8.

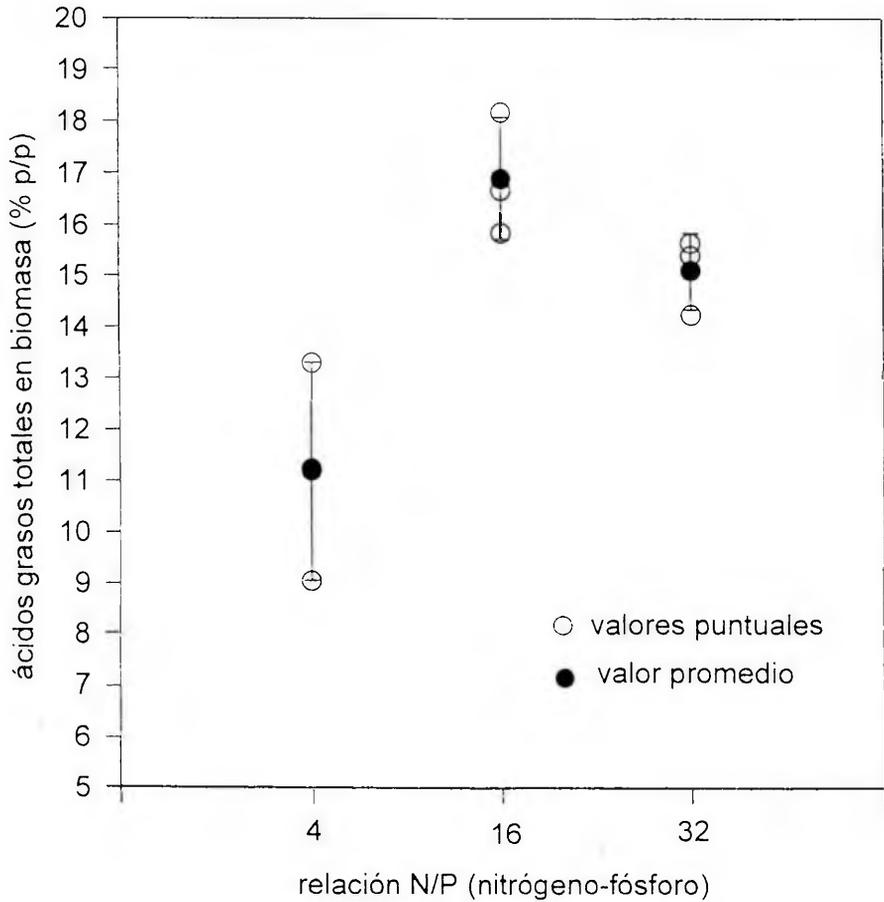


Figura 4: Influencia de la relación nitrógeno-fósforo (N/P = 4, N/P = 16 y N/P = 32) sobre el contenido total de ácidos grasos (en % p/p sobre biomasa deshidratada). Intensidad = 5150 lx y periodo 16:8.

de que una alta intensidad lumínica favorece la producción de ácidos grasos y especialmente de PUFA n-3, tal como puede observarse en las Figuras 2 y 3 (ambas expresadas en % en peso de biomasa deshidratada).

Para el caso de la producción de ácidos grasos totales, un ANOVA encontró diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre intensidades lumínicas ($F_s = 5,11$). Una prueba T encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los resultados obtenidos a la intensidad lumínica más baja (6,91% a 2200 lx) respecto de la intensidad más alta (11,10% a 5150 lx), no se detectaron diferencias significativas en la producción obtenida con la intensidad más alta y la intermedia (8,67 a 4000 lx).

Tomando en cuenta la producción de PUFA n-3, un ANOVA encontró diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre intensidades lumínicas ($F_s = 21,19$). Una prueba T encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre todos los pares de medias, en consecuencia la producción de PUFA n-3 resultó ser significativamente mayor a la intensidad lumínica de 5150 lx (1,93%), respecto de la producción a 4000 lx (1,24%) y esta última de la producción a 2200 lx (0,48%).

Un aumento de la relación nitrógeno—fósforo favorece contundentemente en un primer momento el rendimiento de ácidos

grasos, pero ésta decae luego. Esto se puede apreciar en las Figuras 4 (para ácidos grasos totales) y 5 (para contenido de PUFA n-3), que evidencian la existencia de un máximo cerca de $N/P = 16$. Para estos ensayos se fijó una iluminación de 5150 lux con periodo 16:8.

Un ANOVA del contenido en ácidos grasos totales señala diferencias altamente significativas entre tratamientos ($F_s = 11,77$, $p < 0,01$). Una prueba T encuentra que la media correspondiente a $N/P = 4$ (11,19%) es significativamente menor ($p < 0,05$) que las medias obtenidas a $N/P = 16$ (16,89%) y $N/P = 32$ (15,09%); estas dos últimas medias no difieren significativamente entre sí.

Un ANOVA del contenido en PUFA n-3 señala diferencias altamente significativas entre relaciones N/P ($F_s = 39,61$, $p < 0,001$). Una prueba de T muestra resultados semejantes a los obtenidos con ácidos grasos totales: la media obtenida a $N/P = 4$ es significativamente menor ($p < 0,05$) que las medias obtenidas a $N/P = 16$ (4,66%) y $N/P = 32$ (4,06%), las cuales no difieren entre sí.

No se han podido demostrar diferencias significativas en los contenidos de ácidos grasos totales ($F_s = 1,33$ NS) y PUFA n-3 ($F_s = 0,59$ NS) para los periodos ensayados de iluminación intermitente (16:8) y continua; si bien pareciera aumentar el contenido

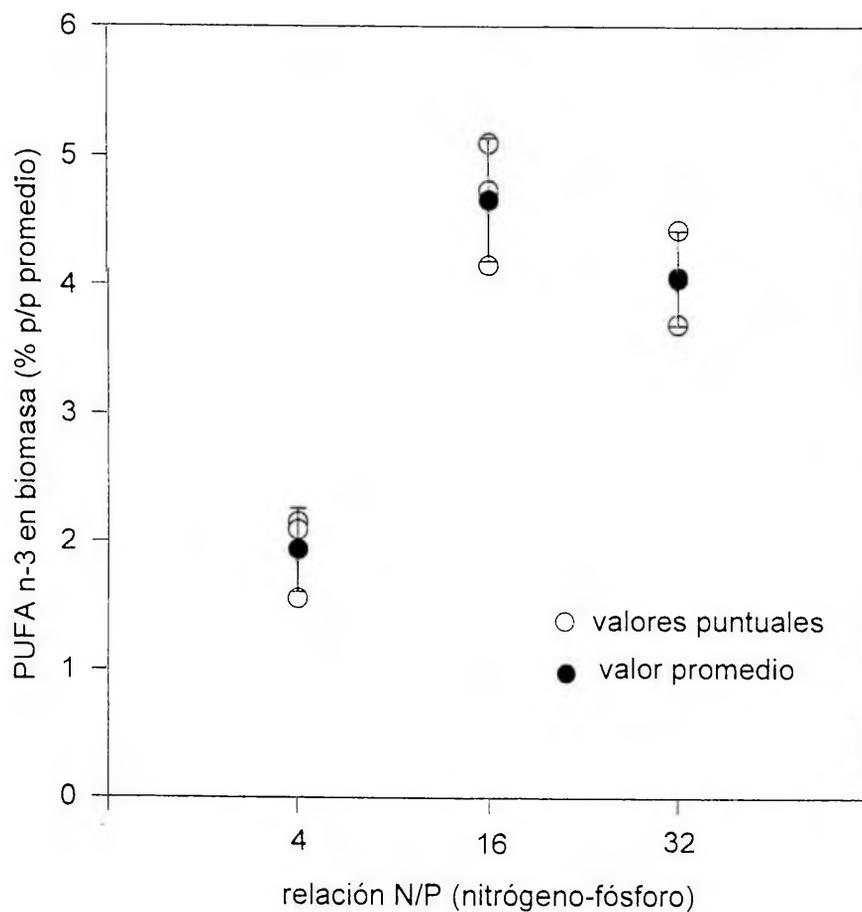


Figura 5: Influencia de la relación nitrógeno-fósforo (N/P= 4, N/P= 16 y N/P= 32) sobre el contenido de PUFA n-3 (en % p/p sobre biomasa deshidratada). Intensidad= 5150 lx y periodo 16:8.

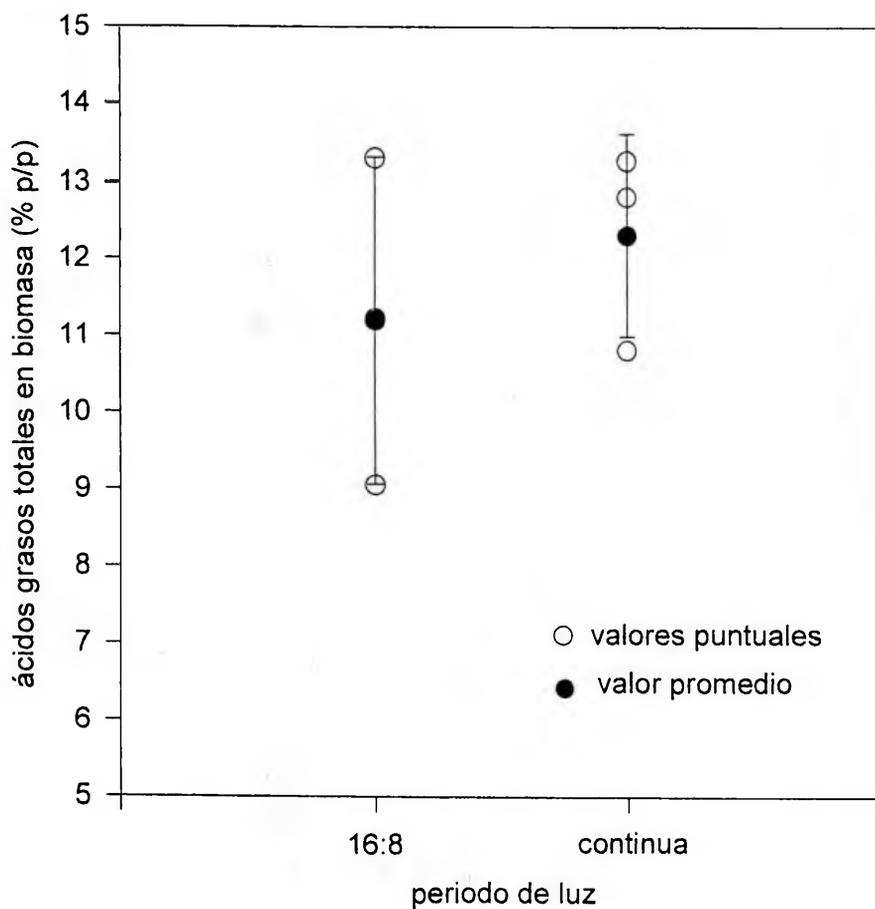


Figura 6: Influencia del periodo de irradiación luminica (16:8 y continua) sobre el contenido total de ácidos grasos (en % p/p sobre biomasa deshidratada). Intensidad = 5150 lx y N/P = 4.

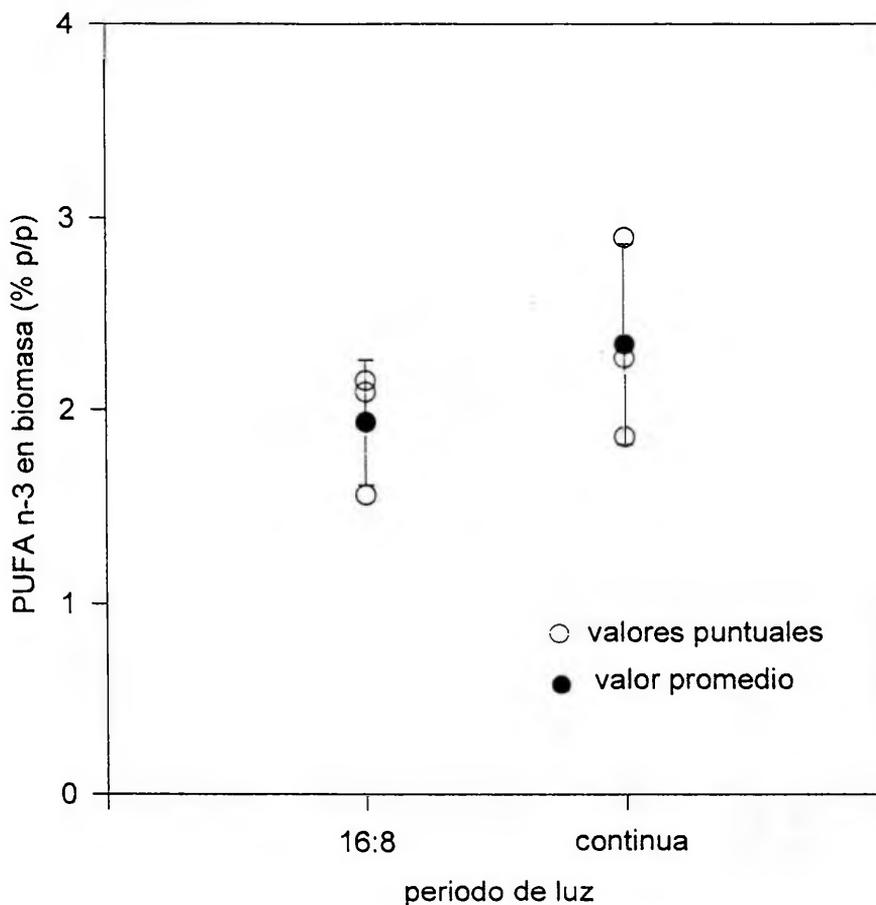


Figura 7: Influencia del periodo de irradiación lumínica (16:8 y continua) sobre el contenido de PUFA n-3 (en % p/p sobre biomasa deshidratada). Intensidad = 5150 lx y N/P=4.

en esta última condición, como puede observarse en las Figuras 6 y 7.

En las condiciones más favorables (N/P = 16, 5150 lux y periodo 16:8) los contenidos promedio de PUFA n-3 y de ácidos grasos totales fueron de 4,66% y 16,89 % p/p de biomasa deshidratada, respectivamente. Los mismos son comparables a los indicados por investigadores que han trabajado con la misma especie de microalga: Yongmanitchai & Ward (1991), Molina *et al.* (1994) y Acién (1996), el primero en escala de laboratorio y los dos últimos con reactores tubulares externos (expuestos a la luz solar) continuos de escala intermedia.

Si se analiza la variación del perfil de ácidos grasos, se encuentra que el aumento de PUFA n-3 ocurre en detrimento de los ácidos saturados y monoinsaturados de cadena más corta, principalmente los ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0) y palmitoleico (16:1n-7), que son los mayores constituyentes de los lípidos de reserva de la célula. En la Figura 8 puede observarse, además, la presencia casi exclusiva de EPA entre los PUFA n-3 en los casos extremos de producción de éstos (la mínima y la máxima). En cambio la presencia de SA, DHA y los otros poliinsaturados n-3 es muy baja. Esta es una característica propia de *Phaeodactylum tricorutum*, que permanece invariable aún

cuando cambien las condiciones de cultivo y que hace que esta especie sea reconocida como una gran productora de EPA.

En la situación más favorable para el contenido en PUFA n-3, el EPA alcanza un 27,59% sobre el total de ácidos grasos, que representa un 4,24% p/p sobre biomasa seca. Este valor es comparable a los mejores obtenidos por Yongmanitchai & Ward (1991) y bastante superior a los encontrados por Molina *et al.* (1994) y Acién (1996).

El hecho de que se hayan observado aquí valores mayores a los obtenidos de otros autores no puede explicarse categóricamente con la información disponible, por cuanto el comportamiento de una misma especie de microalga puede variar fuertemente de una cepa a otra y porque los reactores empleados son de diferente tipo y escala. Asimismo, sus trabajos han sido orientados a la obtención de un alto contenido de EPA sobre el total de ácidos grasos, logrando valores del orden del 50%. En otras palabras, el objetivo a optimizar ha sido conseguir como producto final un EPA de alta pureza. Existe la posibilidad, entonces, de que esto se consiga a expensas del contenido total de ácidos grasos en la biomasa.

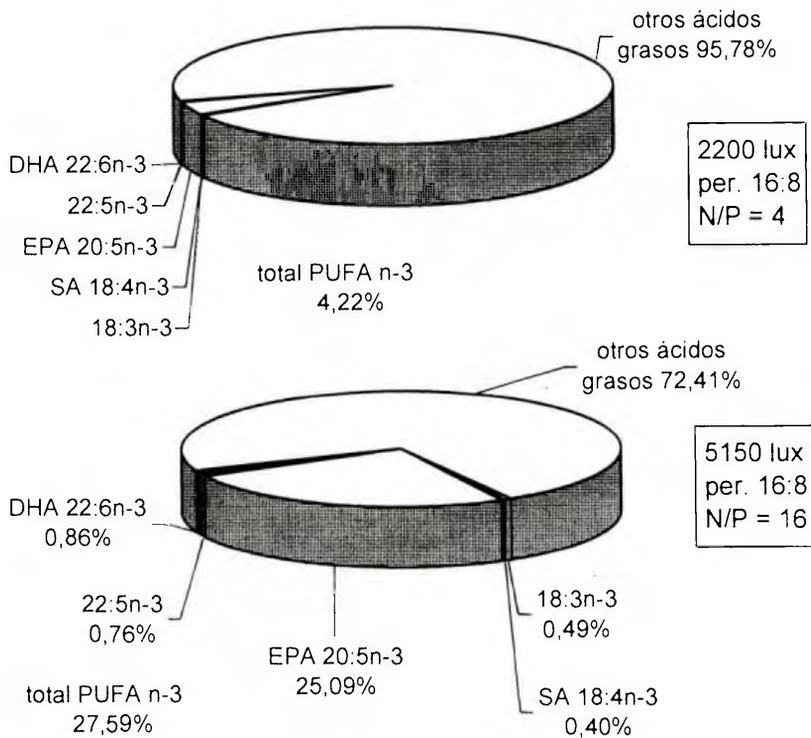


Figura 8: Perfil de ácidos grasos, con detalle de PUFA n-3, en las condiciones extremas de 2200 lx, 16:9 y N/P = 4 (situación más desfavorable para la producción de PUFA n-3) y 5150 lx, periodo 16:8 y N/P = 16 (situación más favorable).

BIBLIOGRAFIA

- Acién Fernández, F. G. 1996. Operación en continuo de fotobiorreactores tubulares externos con la microalga *Phaeodactylum tricorutum*. Tesis doctoral, Universidad de Almería, España.
- Braden, L. M. & Carroll, K. K. 1986. Dietary polyunsaturated fat in relation to mammary carcinogenesis in rats. *Lipids*, 21: 285-288.
- Ibáñez, M. J., Robles, A., Molina, E., Giménez, A., Carstens, M. & Esteban, L. 1998. Optimization of fatty acids extraction from *Phaeodactylum tricorutum* UTEX 640 biomass. *JAOCS*, 75: 1735-1740.
- Dyerberg, J. 1986. Linoleate-derived polyunsaturated fatty acid and prevention of atherosclerosis. *Nutr. Rev.*, 44: 125-134.
- Guillard, R. L. 1973. Culture methods and growth measurements. En J. R. Stein (ed.) *Handbook of Phyco-logical Methods*. Cambridge University Press, Cambridge: 289-311.
- Laing, I. 1991. Cultivation of Marine Unicellular Algae, Laboratory Leaflet, *Lowestoft* (67), 31 pp.
- Lepage, G. & Roy, C. 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one step reaction, Notes on Methodology. *Journal of Lipid Research*, 27: 114-120.
- McLachlan, J. 1973. Growth media. En J. R. Stein (ed.) *Handbook of Phyco-logical Methods*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 2: 25-51.
- Molina, E.; Martínez, M. E., Sánchez, S., García, F. & Contreras, A. 1991. Growth and biochemical composition with emphasis on the fatty acids of *Tetraselmis* sp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 36: 21-25.
- Molina, E., García, F., Sánchez, J., Urda, J., Acién, F. & Fernández, J. 1994. Outdoor chemostat culture of *Phaeodactylum tricorutum* UTEX 640 in a tubular photobiorreactor for the production of eicosapentaenoic acid. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 20: 279-290.
- Mortensen, J. Z., Schmidt, E. B., Nielson, A. H. & Dyerberg, J. 1983. The effect of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids in homostasis, blood lipid and blood pressure. *Thromb. Haemostas.* (Stuttgart), 50: 534-546.
- Provasoli, L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae; *Gap. Soc. Plant. Physical.*: 63-75.
- Reddy, B. S. & Maruyama, H. 1986. Effect of dietary fish oil on aroxy-methane-induces colon carcinogenesis in male F344 rats. *Cancer Res.*, 46: 3367-3370.
- Rico, A., Pérez, L. & Perales, S. 1995. Cultivo con fines económicos de algas unicelulares marinas. Etapa I, cultivo de laboratorio. Informe final de proyecto, Sec. de Ciencia y Técnica, Univ. Nac. de la Patagonia S. J. Bosco, Argentina.
- Sokal, R. & Rohlf, F. 1981. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. Second Edition. W. H. Freeman & Co., New York, 859 pp.
- Souring, J. 1978. *Manual de Phytoplankton*, United National, Scientific and Cultural Organization, 337 pp.
- Yongmanitchai, W. & Ward, O. P. 1991. Growth of and omega-3 fatty

E. Rost *et al.*: Producción de ácidos grasos poliinsaturados.

acid production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture conditions. *Appl. and Env. Microbiology*, 57: 419-425.

LAS LANGOSTILLAS *MUNIDA SUBRUGOSA* Y *M. GREGARIA* (DECAPODA, ANOMURA) COMO POTENCIAL RECURSO ECONOMICO PATAGONICO.

The galatheid crabs *Munida subrugosa* and *M. gregaria* (Decapoda, Anomura) as patagonian potential economic resource.

Gustavo A. Lovrich (*), Miguel A. Casalinuovo (**), Sandra I. Molina (**), Carlos Cárcamo (**), y Roberto Pierotti (**).

(*) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas Centro Austral de Investigaciones Científicas. CC 92. (9410) Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina.

(**) Escuela Provincial de Educación Media N° 1. Indios Yámanas 1572, Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina.

Las langostillas o bogavantes *Munida subrugosa* Henderson, 1847 y *M. gregaria* (Fabricius, 1793) son crustáceos decápodos pertenecientes a la familia Galatheididae, de aproximadamente 5 a 8 cm de longitud ó 10 a 20 g de

peso en su edad adulta. Se distribuyen en toda la plataforma continental argentina, canal Beagle, estrecho de Magallanes, y por el Pacífico al sur de los 42° S (Retamal 1981; Boschi *et al.*, 1992). En el canal Beagle y al

Este trabajo mereció el premio de Incentivo para Proyectos de Investigación 1997, del Area de Actividades Científicas Juveniles de la Secretaría de la Nación de Ciencia y Tecnología.

sudeste de la isla Navarino su abundancia varía entre 20 y 50 individuos m^{-2} , y en términos de densidad son los decápodos más importantes de la comunidad bentónica (Tapella & Lovrich, obs. pers.; Gorny *et al.*, 1996).

Estas langostillas han sido sugeridas como un recurso natural explotable (Retamal, 1973; Vinuesa, 1990) pero nunca se extrajeron a niveles comerciales. En la actualidad, los únicos Galatheidae del mundo que son explotados son el "langostino amarillo" *Cervimunia johni* Porter 1903 y el "langostino colorado" *Pleuroncodes monodon* (H. Milne Edwards, 1837) de la costa de Chile central (35° S). Son comercializados en el mercado internacional como camarones cocteleros y su explotación representa ingresos anuales de 10 millones de dólares (Roa *et al.*, 1995).

Los usos de las langostillas pueden ser varios, a saber: (1) para consumo humano como camarón coctelero, (2) como fuente de astaxantinas como la complemento alimentario y coloración de salmónidos de cultivo, y de coloración de los huevos en gallinas ponedoras, (3) como fuentes de proteasas digestivas para la producción de quesos, y (4) como fuentes de proteínas para alimentos balanceados (Aurioles-Gamboa & Balart, 1995).

En este trabajo estudiamos la factibilidad de las langostillas *M.*

subrugosa y *M. gregaria* de ser utilizadas en el consumo humano como camarón coctelero. Para tal fin, durante junio y julio de 1997 se capturaron ejemplares de *M. subrugosa* y *M. gregaria* en la bahía Ushuaia (canal Beagle) mediante trampas cebadas ubicadas sobre el fondo marino entre 4 y 15 m de profundidad. Los animales se congelaron a -15° C hasta ser procesados. Como ambas especies son morfológicamente similares, en la pesca comercial no se las distinguiría. Consecuentemente se procesó la totalidad de la captura sin discriminar especie ni sexo. Los animales se hirvieron en agua de mar durante 0,1 h y luego se midieron tres variables. Se calculó (1) el rendimiento porcentual de carne, obtenida exclusivamente de la masa muscular del pleon, y se midió (2) el tiempo de decorticado manual para obtenerla libre de exoesqueleto. Además se estimó (3) la aceptación de la langostilla en contraposición con otros dos crustáceos a través de una encuesta. En ésta se ofreció a los encuestados la carne sin identificar de langostilla, camarón *Artemesia longinaris* Bate, 1888 y centollón *Paralomis granulosa* (Jacquinot, 1847) para que se elegiera la de mejor sabor.

El rendimiento promedio en carne fue de 7,4 % (rango 2,2-14,3 %; N=100). Este valor es similar al de 8-12 % de rendimiento de las especies explotadas en

Chile (R. Roa, com. pers) y al 10-12% de rendimiento de *Pleuroncodes planipes* Stimpson, 1860 de la costa Pacífica mexicana (Auriolles-Gamboa & Balart 1995), o al de *Munida quadrispina* (Benedict, 1902) de la costa Pacífica canadiense (B. Burd, com. pers.).

El tiempo promedio de decorticado manual fue de 10 s por ejemplar (rango 6 a 22 s; N=60). A partir de este valor, del rendimiento promedio y considerando un peso de 15 g por ejemplar, sería necesario aproximadamente 2,5 h hombre⁻¹ para obtener en forma manual 1 kg de carne del tipo camarón coctelero.

La carne de la langostilla fue igualmente aceptada a la del camarón. Sobre 24 encuestados, el 42% prefirió la langostilla o el camarón, mientras que sólo el 16% prefirió el centollón.

En conclusión, la langostilla podría utilizarse para el consumo humano y constituir un recurso económico para la Patagonia, porque su rendimiento es similar al de las especies actualmente comercializadas y su gusto es aceptado por el consumidor. El costo que implica el decorticado manual es similar al de otros crustáceos (e.g. centollas, langostino, camarón), pero podría ser aún más bajo si se utilizaran medios mecánicos automatizados. Sin embargo, es necesario conocer la productividad de ambas especies, i.e. estrategias reproductivas y crecimiento, para esta-

blecer su exacta dimensión y potencialidad como recurso natural. Dado que las especies de *Munida* son presas de una treintena de organismos (Rodríguez & Bahamonde, 1986), especialmente de la centolla *Lithodes santolla* (Molina, 1782) del golfo San Jorge (Balzi, 1997) y del róbalo *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830) del Canal Beagle (Isla & San Román, 1995), desde el punto de vista ecológico se deberá estudiar el impacto de la explotación de las langostillas sobre el resto de la comunidad.

BIBLIOGRAFIA

- Auriolles-Gamboa, D. & Balart, E. F. (eds) 1995. La langostilla: biología, ecología y aprovechamiento. Centro de Investigaciones Biológicas del noroeste, S.C., 233 pp.
- Balzi, P. 1997. La dieta natural de la centolla *Lithodes santolla* en el Golfo San Jorge. *Naturalia patagónica*, Cs. Biol., 5: 67-87.
- Boschi, E. E., Fischbach, C. E. & Iorio, M. I. 1992. Catálogo ilustrado de los crustáceos estomatópodos y decápodos marinos de Argentina. *Frente Marítimo*, Argentina, 10: 7-94.
- Gorny, M., Arntz, W. E. & Soto, R. 1996. Crustacea Decapoda: Report on the anomuran and brachyuran crabs. En W. E. Arntz & M. Gorny (eds), Cruise report of the Joint Chilean-German-Italian Magellan "Victor Hensen" Campaign in 1994. *Ber. Polarforsch.*, 190: 60-63.

G. Lovrich *et al.*: *Munida spp.* como recurso económico.

- Isla, M. S. & San Román, N. 1995. Alimentación de *Eleginops maclovinus* (Pisces Notothenidae) en el Canal Beagle, Argentina. *Naturalia patagónica, Cs. Biol.*, 3: 107-127.
- Retamal, M. A. 1973. Contribución al conocimiento de los Decápodos de la región magallánica (1ª parte). *Gayana (Zool.)* 29: 1-24.
- Retamal, M. A. 1981. Catálogo ilustrado de los crustáceos decápodos de Chile. *Gayana (Zool.)* 44: 7-110.
- Roa, R., Gallardo, V. A., Ernst, B., Baltazar, M., Cañete, J. I. & Enriquez-Brionnes, S. 1995. Nursery ground, age structure and abundance of juvenile squat lobster *Pleuroncodes monodon* on the continental shelf off central Chile. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 116: 47-54.
- Rodriguez, L. & Bahamonde, R. 1986. Contribución al conocimiento de *Munida subrugosa* (White, 1847) en la XII Región, Chile. En P. Arana (ed.) *La Pesca en Chile*. Universidad Católica de Valparaíso: 283-296.
- Vinuesa, J. H. 1990. Los recursos marinos renovables de Tierra del Fuego. I Moluscos y Crustáceos. *Contrib. Cient. Centro Austral de Investigaciones Científicas, Ushuaia, Tierra del Fuego*, 11, 29 pp.

NATURALIA PATAGONICA

Normas y sugerencias para los autores

A. Introducción

Naturalia patagónica es una publicación científica de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, dedicada a temas de las ciencias naturales relacionados con la región patagónica.

La publicación se halla constituida por las siguientes series: Ciencias Biológicas, Ciencias de la Tierra y Reportes Técnicos.

Se publicarán cuatro categorías de contribuciones:

1. **Artículos científicos**, de 5 a 35 carillas tamaño carta (doble espacio), incluyendo tablas, dibujos y referencias bibliográficas.

2. **Notas cortas y comentarios a trabajos recientemente publicados**, de 2 a 4 carillas tamaño carta (doble espacio). Con abstract (inglés) y preferentemente sin gráficos.

3. **Artículos de revisión o revisiones taxonómicas**, esta categoría acomoda artículos extensos, de 30 a 100 carillas tamaño carta (doble espacio).

Existe un máximo de una revisión por número editado. Los autores de revisiones deberán consultar con el editor, en forma directa o a través de un miembro del Comité Editor, antes de enviar un manuscrito. Los artículos de revisión pueden contener textos o ilustraciones de trabajos publicados previamente; los autores son responsables de obtener las autorizaciones correspondientes.

4. **Artículos solicitados** a personas de reconocida autoridad en el tema requerido (no sometidos a arbitraje externo), de 35 a 100 carillas tamaño carta (doble espacio). Pueden contener textos o ilustraciones de trabajos publicados previamente; los autores son responsables de obtener las autorizaciones correspondientes.

B. Política editorial

Los manuscritos deben ser enviados al Director, al Editor o a alguno de los integrantes del Comité Editor de **Naturalia patagónica**.

En primer lugar los artículos son controlados respecto de su lenguaje, presentación y estilo. Los manuscritos que son obviamente subestándar al respecto (ver más adelante para mayor información), son retornados a sus autores sin mayor revisión. Dichos manuscritos pueden ser remitidos nuevamente luego de efectuarles las correcciones correspondientes.

Los manuscritos que se ajustan al estilo de la revista son enviados a árbitros externos. El Comité Editor decide la aceptación o el rechazo del trabajo en base de los informes enviados por los árbitros, por el Editor y las subsecuentes revisiones de los propios autores.

C. Preparación del manuscrito

Los manuscritos deben ajustarse a las reglas de la gramática castellana.

Se aconseja el uso de un lenguaje conciso ya que el mismo mejora la lectura de un trabajo.

Deben evitarse las aseveraciones ambiguas, expresiones vagas, series de adjetivos largas y que no hacen al caso y tiempos de verbo pasivos en lugar de activos. Los autores son advertidos acerca del uso descuidado de expresiones científicas y también acerca del uso incorrecto del punto y de la coma en los valores numéricos: en castellano la coma separa los valores enteros de los decimales.

SE DEBEN ENVIAR TRES COPIAS DEL MANUSCRITO ESCRITAS A MAQUINA Y UNA COPIA EN DISKETTE CONFECIONADA CON UN PROCESADOR DE TEXTOS CORRIENTE.

Las copias escritas a máquina deben estar libres de errores y correcciones manuales. Deben estar escritas en papel tamaño carta o A4 a doble espacio y tipeadas de un solo lado, con márgenes anchos (2-3 cm) a cada lado. Una página tamaño carta preparada correctamente contiene unas 320 palabras; aproximadamente 1,2 de dichas páginas quedan reducidas a una página de la revista (sin incluir ilustraciones). Tablas e ilustraciones también deben ser remitidas por triplicado; en el caso de las ilustraciones es suficiente el original y dos fotocopias.

El papel utilizado para el texto debe ser blanco, de buena calidad (75 g/m²) y de tamaño carta o A4. No se acepta papel tipo manifold.

El contenido del manuscrito debe estar bien organizado. La primera página debe contener el título de la contribución en castellano y en inglés, nombre(s) del(de los) autor(es), dirección(es), dirección de E-mail del primer autor, un título corto (titulillo) de no más de seis palabras, para utilizar como encabezamiento de las páginas internas del trabajo.

La segunda página debe contener un resumen acompañado de hasta seis palabras clave en castellano. El resumen debe ser escrito sin puntos aparte y sin referencias bibliográficas.

La tercera página debe contener un abstract (en inglés) lo más exhaustivo posible, sin puntos aparte y sin referencias bibliográficas, acompañado de hasta seis palabras clave en inglés.

El cuerpo del texto debe comenzar en la cuarta página, debe dividido en secciones y subsecciones y **estar libre de notas al pie de página.**

Una organización típica del texto es como sigue:

- Introducción
- Descripción de los sitios estudiados
- Material y métodos
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Bibliografía
- (*) Tablas
- (*) Texto de las figuras

(*) La ubicación aproximada de tablas y figuras puede ser indicada en el margen izquierdo del texto.

Algunas secciones como Descripción de sitios y Material y métodos por una parte y Discusión y Conclusiones por otra, pueden ser reunidas bajo un

mismo encabezado.

Los agradecimientos deben ser incluidos dentro de la introducción.

Los nombres de plantas y animales pueden estar subrayados o escritos en itálicas.

La versión del manuscrito confeccionada en diskette (de 3 ¼") debe ser elaborada con un procesador de textos para computadoras personales (IBM o compatibles), preferiblemente Word para Windows.

No intente dar al texto que envía (texto a máquina y/o texto en diskette) una apariencia semejante a la de la revista. El uso de sangrías, tabulados, remarcados de cualquier clase y sangrías francesas (en la bibliografía), sólo dará por resultado la complicación innecesaria de la labor de edición. **Usar en lo preferible un estilo de párrafo simple tal como el denominado cuerpo de texto.**

D. Tablas

Las tablas son más difíciles de editar que los textos y en consecuencia sólo deben ser remitidas cuando sean realmente necesarias. Las tablas no deben duplicar figuras y viceversa. Deben estar numeradas consecutivamente en números romanos y **contener una descripción adecuada en su parte superior.**

Las tablas deben ser presentadas individualmente, en hojas separadas de papel blanco. Las tablas desplegadas no serán aceptadas ya que las mismas son muy caras.

Las tablas deben ser simples, no se deberán usar líneas verticales y las horizontales deben limitarse a un mínimo. Ver más abajo para las abreviaturas de unidades.

Las referencias a tablas en el texto deben ser indicadas por ejemplo como sigue:

"...estos resultados (Tabla IV)."

"...como se indica en la Tabla IV..."

"En la Tabla IV se muestra..."

La versión en diskette de las tablas también debe enviarse en archivos individuales y separados del archivo de texto o al final del mismo.

Es posible enviar una versión de tablas publicable en forma directa, es decir como si se tratara de una figura, si se siguen las siguientes condiciones:

i. Las tablas deben ser acordes al tamaño de caja de la revista. Esto es el ancho debe ser de 12 cm y el largo máximo de 17,50 cm (tener en cuenta el texto explicativo).

ii. No usar líneas dobles, grisados u otros adornos innecesarios.

iii. Usar tipo de letra **Arial** en los tamaños 8, 9 o 10.

iv. No incluir el texto explicativo.

E. Figuras

Todas las figuras deben estar numeradas con números arábigos arriba o detrás e identificadas con el nombre del autor.

La numeración será correlativa ya sea que las ilustraciones estén aisladas o agrupadas. Se evitará referirse como láminas a los conjuntos de figuras que se ubiquen sobre una página. Cuando se considere necesario, una figura podrá subdividirse en elementos, los cuales serán identificados con letras (fig. 5A; fig 5B; fig. 3a; fig. 3b).

Las figuras deben estar confeccionadas con tinta china (o equivalente) sobre cartulina ilustración, papel ilustración grueso, papel vegetal de buena calidad o papel blanco de 80-90 g/m². En cualquier caso, es aconsejable que las figuras estén montadas sobre cartón forrado con papel blanco y convenientemente protegidas.

Resulta conveniente que las ilustraciones sean adecuadas al tamaño de caja de la revista: para una ilustración que tome ambas columnas el ancho es de 12 cm y el largo máximo es de 17,50 cm (tomar en cuenta el texto de la figura). Como en el caso de las tablas, las figuras pueden tener dimensiones que sean múltiplos (enteros o no) del tamaño de caja.

Naturalia patagónica: Normas y sugerencias para los autores (v. 2.5)

Las ilustraciones más angostas que el ancho de caja (o de un múltiplo del mismo) resultan por lo general poco armónicas.

Las letras y escalas en gráficos y figuras deben ser claras y de calidad profesional; en particular deben estar dibujadas de forma de ser legibles luego de una eventual reducción. No enviar ilustraciones excesivamente entintadas o con tramas densas ya que es probable que éstas resulten empastadas si se lleva a cabo su reducción.

Las fotografías (blanco y negro) deben estar montadas de forma de utilizar una página completa, respetando el ancho y largo de la caja y guardando lugar para las referencias en su parte inferior. A los efectos de su impresión es conveniente que las fotografías estén bien contrastadas y separadas entre sí por espacios blancos.

Las referencias de las figuras deben ir agrupadas en una hoja de papel separada y adjunta al manuscrito.

Incluya además el texto de las figuras junto con cada una de éstas. No escriba las referencias bajo las figuras, sino en su parte posterior.

El número de figuras debe ser razonable y proporcionado al texto para facilitar la tarea de edición.

Si la calidad de las ilustraciones es considerada subestándar el trabajo será devuelto a los autores.

Las referencias a figuras en el texto deben ser indicadas por ejemplo como sigue:

"...estos resultados (fig. 4)."

"...como se muestra en la Figura 4..."

"En la Figura 4 se observa..."

En la versión en diskette las referencias a las figuras se incluirán en la parte final del texto.

F. Unidades, símbolos y abreviaturas

Se aceptarán solamente unidades internacionales estándar. Ver cuadros 1 a 3.

G. Nomenclatura biológica.

Se solicita de los autores cumplir con las reglas expresadas en el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, Código Internacional de Nomenclatura Botánica y Código Internacional de Nomenclatura de Bacterias.

Los autores deben revisar la escritura de los nombres científicos utilizados. Cuando un nombre científico se usa por primera vez en un artículo este debe ser escrito en forma completa y con el(los) nombre(s) del(de los) autor(es). En citas posteriores el género puede ser abreviado a la primera letra seguida por un punto y los autores omitidos.

1. Unidades básicas y sus símbolos.

	Unidad	Símbolo	Símbolo incorrecto
Largo	metro	m	m., mt
Masa	gramo	g	g., gr
Tiempo	segundo	s	seg
	hora	h	hr
	día	d	
	año	a	

2. Algunos prefijos para las unidades básicas.

Prefijo	Símbolo	Valor	Prefijo	Símbolo	Valor
Giga	G	10^9	centi	c	10^{-2}
Mega	M	10^6	mili	m	10^{-3}
kilo	k	10^3	micro	μ	10^{-6}
			nano	n	10^{-9}

3. Algunas unidades derivadas y sus símbolos.

	Unidad	Símbolo	Símbolo incorrecto
Superficie	metro cuadrado	m^2	
Volumen	metro cúbico	m^3	
	también son aceptables: l (litro) y ml (mililitro)		
Velocidad	metro por segundo	$m s^{-1}$	
Fuerza	Newton	N	
Presión	Pascal	$Pa = N m^{-2}$	bar, atm, torr, mm Hg, mm H ₂ O
Energía	Joule	$J = N m$	cal, kWh, erg, HP, CV
Frecuencia	Herz	$Hz = s^{-1}$	ciclos, $c s^{-1}$
Resistencia	Ohm	Ω	
Conductividad	Siemens	$S = \Omega^{-1}$	mho

H. Expresiones misceláneas.

$\text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se prefiere a
 $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ o
 $\text{kg X m}^{-2} \text{ X s}^{-1}$ o
 $\text{kg/m}^2/\text{s}$
 mg l^{-1} o mg kg^{-1} se prefiere a
ppm (partes por millón)
 $\mu\text{g l}^{-1}$ o $\mu\text{g kg}^{-1}$ se prefiere a
ppb (partes por mil de millón)
 g l^{-1} o % se prefiere a
ppm (partes por mil)

I. Símbolos químicos.

Iones: PO_4^{3-} se prefiere a PO_4^{---}
 Fe^{2+} se prefiere a Fe^{++}
Compuestos: Es frecuente el uso de abreviaturas tales BOD, DO etc. Se aconseja detallar el significado de cada abreviatura cuando se la usa por primera vez en el texto. No se alienta el uso excesivo de tales abreviaturas.

J. Nomenclatura química.

Deben utilizarse las convenciones de la International Union of Pure and Applied Chemistry y las recomendaciones del IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature.

K. Bibliografía citada

1. Citas en el texto.

Se usa el sistema de nombre y año: Pérez (1983) o (Pérez, 1983). Para dos autores se usa Pérez & D'antoni (1983) o (Pérez

& D'antoni, 1983).

Para más de dos autores usar: Pérez *et al.* (1983).

Si se repite la misma cita a intervalos breves se puede usar: Pérez (*op. cit.*). Se aconseja sin embargo repetir la cita las veces necesarias.

No se usarán iniciales excepto en caso de homonimia o de comunicaciones personales (com. pers.) o por carta (*in litt.*).

Es posible la cita de una página, tabla o figura en particular de un trabajo citado: Brown (1966: 182) o Brown (1966: 182, fig. 2).

Cuando no se ha tenido acceso a un trabajo, pero se tiene conocimiento del mismo a través de un segundo trabajo y resulta necesario hacer referencia al mismo, se puede usar: Brown (1980; según Pérez, 1983) o (Brown, 1980; según Pérez, 1983).

2. Citas en la lista bibliográfica.

La lista de referencias bibliográficas debe ser encabezada como **Bibliografía**.

Todas las publicaciones citadas en el texto y solamente éstas deben ser listadas.

Las publicaciones deben siempre ser citadas en su idioma original excepto en el caso de alfabetos no latinos, prefiriéndose en este caso una transliteración latina, letra por letra; también puede aceptarse en este caso una

traducción al castellano o al inglés, indicando entre paréntesis el idioma original al final de la referencia.

La inclusión de citas de trabajos aún no publicados en la lista de referencias es aceptable solo si los mismos han sido aceptados para publicar y se puede indicar al menos el año, volumen y número de la revista.

Autores: Las publicaciones serán ordenadas alfabéticamente por el apellido del primer autor.

Para cada autor las referencias se ordenarán cronológicamente. Si un autor publicó varios trabajos en el mismo año se indicarán como en el siguiente ejemplo:

Mendoza, M. L. 1969 a. Estudio sistemático y ecológico de las Ceramiales (Algae, Rhodophyta)...

Mendoza, M. L. 1969 b. Las Delesseriaceae (Rhodophyta) de Puerto Deseado, Provincia de Santa Cruz...

Esto también se aplica a las citas en el texto.

Se deben evitar las referencias como "Anónimo", utilizando en esos casos el editor u organismo responsable de la publicación, como pueden ser FAO o UNESCO.

Si un autor ha publicado solo y con coautores, los trabajos individuales se listan primero y luego los trabajos en colaboración por orden alfabético de los coautores.

Los apellidos del autor o los autores irán seguidos de las iniciales de los nombres. Las iniciales de los nombres irán seguidas de un punto. Los apellidos irán separados por comas de las iniciales de los nombres y las iniciales de un autor irán separadas por una coma del apellido del siguiente autor.

En el caso de dos o más autores se colocará un "&" entre el anteúltimo y último autores. Se deberá respetar la puntuación y orden de apellidos e iniciales de nombres que se utilizan en los siguientes ejemplos:

Cerezo, A., Lezerovich, A. & Labriola, R. 1971. A xylan from the red seaweed *Chaetangium*...

Clayton, M. N. & Wiencke, C. 1990. The anatomy, life history and development of the Antarctic brown algae *Phaeurus antarcticus*...

En el caso de apellidos compuestos, éstos se ordenarán por la primera palabra; así, Van Straelen aparecerá en la V en tanto que, Du Pratt aparecerá bajo la D. En el caso de mujeres que utilicen el apellido de casada y de soltera se listarán por el de soltera: Rabinovich de Halperín, aparecerá en la R.

Publicaciones periódicas: el orden a seguir es el siguiente:

Autor(es). Año de publicación. Título del trabajo. Título de la revista, número del volumen [en negrita]: primera página del trabajo-última página.

Naturalia patagónica: Normas y sugerencias para los autores (v. 2.5)

Cerezo, A., Lezerovich, A. & Labriola, R. 1971. A xylan from the red seaweed *Chaetangium fastigiatum*. Carbohydr. Res. 19: 289-296.

Cincioni, A. S. 1964. Algas marinas en la alimentación del ganado. An. Soc. Cient. Arg. 177: 45-56.

Cinelli, F., Mendoza, M. L. & Cabiocch, J. 1989. Note sur quelques espèces de corallinacées (Rhodophyta) recoltées dans l'Antarctique. Phycologia 28: 136-139.

No deben usarse notaciones como: Vol.; nro. También es superfluo aclarar el número de figuras o tablas cuando están incluidas en el texto.

El número correspondiente a una parte de un volumen debe especificarse, entre paréntesis, sólo si cada parte, usualmente denominada "número", comienza por la página 1. Solo se deben utilizar números arábigos para numerar los volúmenes, evitándose los romanos.

Si se listan varios trabajos correspondientes a la misma revista o publicación, no se debe usar "ibid" para reemplazar a la abreviatura del nombre o nombre de la misma.

Si el nombre de la revista a citar consta de una sola palabra no se debe abreviar, como es el caso de: Physis; Nature; Darwiniana; Hydrobiologia.

Las abreviaturas de los nombres de las revistas que aparecen regularmente pueden ser consultados en el Catálogo de Publicaciones Periódicas del

Consejo Nacional de Investigaciones (CONICET).

En caso de duda se deben evitar las abreviaturas.

Algunas reglas generales para abreviaturas son: no escribir los adjetivos con mayúsculas, a menos que sea la primera palabra del título. Ejemplos: american = am.; linneana = linn.

Luego de las palabras abreviadas se escribe un punto, pero no luego de las palabras contráidas. Ejemplos: Journal = J.; Board = Bd (y no Bd.); Editor = ed.; Editores = eds (y no eds.)

Simposios editados, volúmenes especiales, etc. en una revista periódica: En el caso de que el trabajo corresponda a un simposio o número especial que hayan sido publicados en una revista, el orden a seguir es el siguiente:

Autor[es]. Año de publicación. Título del trabajo. En [Iniciales del nombre del Editor, Apellido del Editor] (ed.), Título del Simposio o Volumen Especial. Título de la revista, número del volumen [en negrita]: primera página del trabajo - última página.

Dussart, B. H. 1980. Copépodes. En J. R. Durand & C. Lévêque (eds), Flore et Faune aquatiques de l'Afrique sahélo-soudanienne. O.R.S.T.O.M., Doc. Tech. 44: 333-356.

Libros: En el caso de libros el orden es el siguiente:

Autor(es). Año. Título. [volumen, si corresponde]. Editorial, ciudad, número de páginas pp.

Hutchinson, G. E. 1975. A treatise on limnology, 3. J. Wiley & Sons, New York, 660 pp.

Libros con capítulos escritos por diferentes autores: En este caso el orden es:

Autor(es) del capítulo. Año. Título del capítulo. En [Iniciales del nombre del editor, Apellido del editor] (ed), Título del libro. Editorial, ciudad: primera página - última página.

Lucas, A. 1976. La mytiliculture. En P. Bougis (ed.), Oceanographie biologique appliquée. Masson et Cie. Eds, Paris: 245-247.

L. Envío de originales

Los originales deberán ser remitidos a:

Naturalia patagónica
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Nacional de la Patagonia
San Juan Bosco
Ciudad Universitaria, Km. 4
(9000) Comodoro Rivadavia
Provincia del Chubut
República Argentina

M. Nota final

Se recomienda hacer leer el trabajo por uno o varios colegas antes de su envío para eliminar de antemano todos los errores de tipeo, nombres científicos, unidades, estandarización de referencias a figuras, tablas y bibliografía. Verificar también que la lista de referencias bibliográficas esté completa y que todos los trabajos listados correspondan a los mencionados en el texto.

En el caso de que se requiera a los autores una reestructuración importante del trabajo, se solicitará a los mismos el nuevo envío de original y dos copias y de un nuevo diskette con el texto corregido.

CONTENIDO

ARTICULO DE REVISION

PIZZOLON, L. Descomposición de las macrofitas en ambientes de agua dulce 1 - 27

ARTICULOS CIENTIFICOS

MALACALZA, V., BERTELOTTI, M. & PORETTI, T. Presencia de nematodos (*Contracecum sp.*) en "pellets" del cormoran real (*Phalacrocorax albiventer*) en punta León, Chubut, Argentina 29 - 34

VINUESA, J. H. & LABAL de VINUESA, M. La gametogenesis de la centolla, *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Crustacea, Decapoda, Lithodidae) 35 - 49

CASAS, G. N. & PIRIZ, M. L. Cultivo experimental de la agarífera *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) en golfo Nuevo, Argentina 51 - 69

ROST, E., RICO, A., CARSTENS, M. R., PERALES, S. & PEREZ, L. Producción de ácidos grasos poliinsaturados n-3 de la microalga marina *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin) 71 - 88

NOTAS

LOVRICH, G. A., CASALINUOVO, M. A., MOLINA, S. I., CARCAMO, C. & PIEROTTI, R. Las langostillas *Munida subrugosa* y *M. gregaria* (Decapoda, Anomura) como potencial recurso economico patagónico 88 - 92