

ESTUDIO HISTOLÓGICO DE HUEVOS OVÁRICOS PARTENOGENÉTICOS DE *Moina eugeniae*, OLIVIER 1954

F. G. ELÍAS ¹, P. M. CERVELLINI ¹, E. GARIBOTTI ²
& C. PICCOLO ²

¹ Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, (8000) - Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires.

² Instituto Argentino de Oceanografía (CONICET), Centro Regional de Investigaciones Básicas y Aplicadas de Bahía Blanca, cc804, Camino de la Carrindanga, Km 7,5, (8000) - Bahía Blanca, Argentina.
e-mail: ferelias@criba.edu.ar

ABSTRACT. *Moina eugeniae* is one of the most abundant zooplankton species found in ponds and lakes in Buenos Aires Province. Its importance is due to the common use of cladocerans as food fish. The aim of the present study was to investigate the reproductive structures through histological techniques. Samples were taken with a plankton net (150 µm) from the Calderón lake (Buenos Aires) during Spring 2006. The specimens were anesthetized with CO₂ "in situ" and fixed with formaldehyde 4%. Parthenogenetic females in different reproductive stages were selected to perform with them routine histological techniques. No males were identified during our study. The ovaries are pair, sacular and disposed dorsally in the body. The oocytes are polyedric with three different stages of maturation: previtellogenic (dense nuclear cromatine), vitellogenic (abundant yolk in cytoplasm and large granules of cromatine in the nucleus) and mature (abundant lipidic drops in cytoplasm). Many of the morphological features observed are similar to those of *Daphnia* genus. Further investigation is needed to elucidate the reproductive cycle of this species.

Key words: *Moina eugeniae*, oocytes, histology, vitellogenesis.

Palabras clave: *Moina eugeniae*, ovocitos, histología, vitelogénesis.

INTRODUCCIÓN

Moina eugeniae es una especie común en los lagos y lagunas costeras de la provincia de Buenos Aires (Argentina) y se la ha encontrado también en espejos de agua de la provincia de La Pampa. Se registran escasos antecedentes sobre estudios de la morfología de esta especie y de la familia Moinidae en general, tal como lo demuestran las revisiones de Goulden (1968) y Smirnov (1971). La especie en estudio es partenogenética, alternando con generaciones sexuales, según las condiciones ambientales (Gilbert, 1983; Ruppert y Barnes, 1996).

Los cladóceros son un eslabón fundamental de la cadena trófica de la mayoría de los cuerpos de agua de la provincia de Buenos Aires. La importancia del género *Moina* se debe a que recientemente se la ha seleccionado como especie alternativa para alimento de peces en cultivo y en acuarismo, debido a su alto valor nutritivo. Tradicionalmente en acuicultura se emplean especies pertenecientes al género *Daphnia* (Rottmann *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2006).

La heterogonía es un tipo de ciclo de vida en el cual alteran la reproducción sexual y la partenogénesis. Esta forma no sólo es propia del grupo Cladocera (Crustacea), sino que se halla

en otros tan diversos como Rotatoria (Aschelmintha), Malacothrui (Plathelmintha) y Aphidae (Insecta). La generación partenogenética responde a condiciones ambientales estables y puede mantenerse así durante varias generaciones mientras se mantenga la estabilidad ambiental. En cambio, la generación sexual aparece instantáneamente ante un cambio en la temperatura, nutrientes u otro factor externo ambiental, asegurando la adaptación de la especie mediante la variabilidad genética.

Los ovarios de los crustáceos se localizan dorsal o dorsolateralmente al intestino (Brusca y Brusca, 2005) y usualmente son órganos pares. En los Branchiopoda se observan dos tipos de ovarios: uno compuesto por varias ovariolas con ovocitos en crecimiento junto con células nodrizas, que protruyen del epitelio germinativo hacia el hemocele (Notostraca y Conchostraca), y otro tipo no ramificado que se observa en Anostraca y Cladocera.

El objetivo del presente trabajo consistió en estudiar la estructura del ovario de *Moina eugeniae* como contribución al conocimiento de su biología reproductiva y su posible aplicación en prácticas de acuicultura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante la primavera del 2006 se muestreó la laguna Calderón localizada al sudoeste de la Provincia de Buenos Aires, muy próxima al estuario de Bahía Blanca (38°43'27.9"S–62°2'26.1"O). Las muestras se tomaron con red de plancton de 150 µm y se fijaron "in situ" en formaldehído al 4%; previamente, para evitar la contracción de los tejidos los ejemplares se anestesiaron con CO₂ (la concentración utilizada de este gas es la usual para aguas gasificadas). El estudio se realizó con ejemplares provenientes de poblaciones silvestres, seleccionando 25 hembras partenogenéticas de una talla que osciló de 0,83 mm a 0,98 mm. En el laboratorio, los ejemplares se sometieron a

deshidratación con alcoholes de gradación creciente y se incluyeron en parafina. Los cortes, de 3 µm, se colorearon con hematoxilina-eosina. Las microfotografías fueron tomadas con cámara Olympus C7070, adaptada a un microscopio Olympus BX51.

RESULTADOS

La figura 1 muestra un corte histológico de un ejemplar completo de *Moina eugeniae* donde se pueden diferenciar la región cefálica y el tronco. Dorsalmente al mismo se evidencia la cámara incubatriz. La figura también muestra la ubicación del intestino y disposición de los ovarios. Estos últimos son pares, tubulares, alargados, separados uno del otro respecto del intestino, dispuestos dorsolateralmente (Fig.2). El aumento de tamaño de los ovocitos hace que sean fácilmente distinguibles las gónadas en los especímenes que han alcanzado la madurez sexual.

La pared del ovario está formada por un epitelio simple plano con algunas fibras de tejido conectivo (Fig.3 a, c). Los ovocitos poliédricos en distintos estadios de madurez, se disponen en grupos en forma simultánea dentro del ovario. De acuerdo con sus características citológicas, se reconocieron tres estadios de maduración de las gametas femeninas: un primer estadio, previtelogénico, con células muy pequeñas (10 µm) y un núcleo con cromatina densa, sin vitelo o casi carente de él; en un segundo estadio, vitelogénico (Fig. 3a), el ovocito presenta mayor tamaño (22,5 µm), núcleo más grande en el que se evidencian gránulos de cromatina. En el citoplasma se visualiza mayor presencia de vitelo. En un tercer estadio, maduro, el ovocito es de mayor tamaño (50 µm), con un núcleo prominente, con presencia de un nucléolo notorio; el citoplasma contiene vesículas lipídicas (Fig. 3b, c). No se observaron células foliculares acompañantes, ni dentro del ovario ni en la cámara incubatriz. Tampoco se observó membrana

vitelina; y, en los cortes realizados, no se evidenciaron oviductos. El número de huevos en los ejemplares analizados varió entre 4 y 5 (Fig.4 a). Los mismos desarrollaron en embriones con forma similar a la del adulto (Fig. 4b).

DISCUSIÓN

En la mayoría de los crustáceos los ovarios son pares, de estructura alargada, dispuestos a lo largo del intestino con disposición dorsal. Cuando alcanzan la madurez, en los grupos más evolucionados, los ovarios tienen un arreglo tubular, con lóbulos conteniendo óvulos maduros (Erkan, 1997; Pennak, 1978). Histológicamente se ha observado la presencia de ovarios pares en esta especie. Como carácter diferencial respecto de crustáceos más evolucionados (Decapoda), en *M. eugeniae*, las gónadas son tubulares simples sin ramificaciones.

La pared del ovario de *M. eugeniae* está formada por un epitelio simple plano con fibras acompañantes que darían elasticidad al órgano cuando las gametas crecen en su interior. Es probable que tanto dichas fibras como el epitelio delicado acompañante, faciliten el transporte de vitelo desde el hemocel hacia el interior de los ovocitos (Erkan, 1998). No se observaron células foliculares acompañantes de los ovocitos lo que reforzaría la idea del transporte transmembranal de la pared del ovario. Erkan (1998) trabajando con microscopía electrónica en ovarios del isópodo *Asellus aquaticus* señala que las células de la pared del ovario dieron PAS (+) junto con los gránulos integrantes de los ovocitos maduros. Esto sugiere el pasaje de sustancias a través del tejido ovárico mural.

Diferentes autores, entre ellos Erkan (1998), han observado que acompañando la pared del ovario existen fibras musculares; mientras que Tennet e Ito (1971) notaron su ausencia. Esta afirmación es coincidente

con lo observado en los cortes histológicos de *M. eugeniae*.

En la mayoría de los taxones del subphylum Crustacea cada oviducto está localizado dorsalmente a excepción de los Eumalacostracos. Pennak (1978) señala que el extremo posterior del oviducto es tan delicado que no puede ser distinguido excepto que un huevo pase por él. En los cortes histológicos realizados no se evidenció la presencia de oviductos aunque se estima su existencia como estructura conductora de los huevos hacia la cámara incubatriz.

Los huevos sufren una división simple en su maduración dentro del ovario y un número determinado de ellos es liberado vía oviducto hacia la cámara incubatriz. En cuanto a la forma de estos huevos, Kaestner (1968) señala para el grupo Cladocera, forma oval y abundante vitelo. La histología de *M. eugeniae* revela la forma poliédrica en estas células.

Según las especies de cladóceros y teniendo en cuenta las condiciones ambientales, el número de huevos por camada varía considerablemente (Pennak 1978). Por lo general, hay entre 2 y 40 huevos por cámara, siendo lo usual entre 10 a 20. En *M. eugeniae* se encontraron ejemplares con 4 a 5 por cámara incubatriz.

La tipificación de los ovocitos registrada en este estudio puede ser comparada con la efectuada por Pastorinho y colaboradores (2003) en el trabajo de ovocitos del copépodo *Acartia tonsa*. Los autores también clasifican en tres los estadios pero denominan al primero como inmaduro mientras que en el presente estudio, se denomina previtelogénico. En ambos casos, el tipo celular responde a células de menor tamaño respecto del máximo que puedan alcanzar. En los estadios segundo y tercero, tanto la denominación como la tipificación de las células son coincidentes. El estadio II incluye a ovocitos vitelogénicos con acumulación progresiva de vitelo y el estadio III, pertenece a gametas

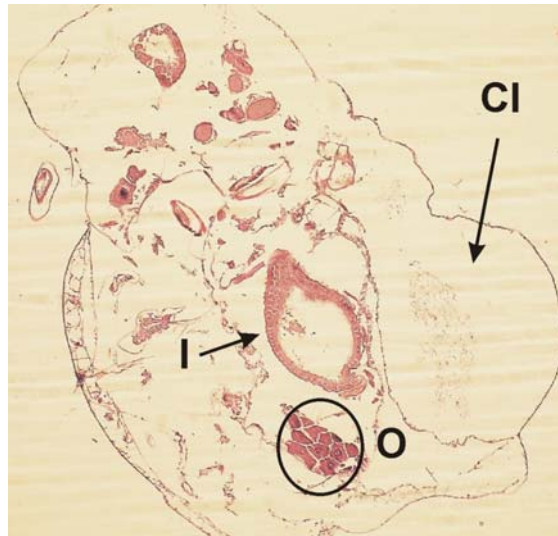


Figura 1. Fotomicrografía de *Moina eugeniae*. Corte longitudinal. Intestino (I), ovario (O) y cámara incubatriz (CI). H y E. x10.

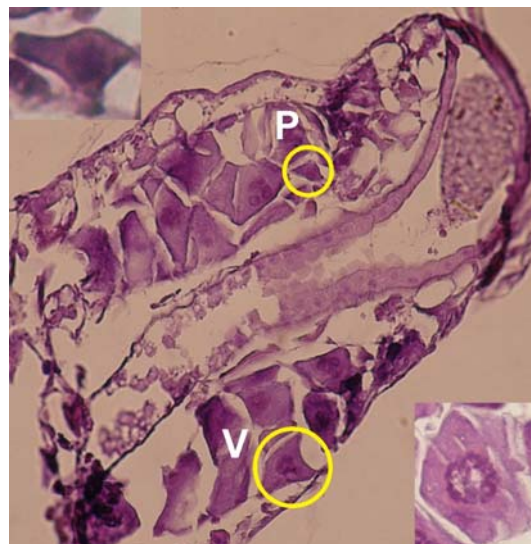


Figura 2. Fotomicrografía de *Moina eugeniae*. Corte longitudinal de los ovarios pares. Ovocitos previtelogénicos (P) y vitelogénicos (V). H y E. x40.

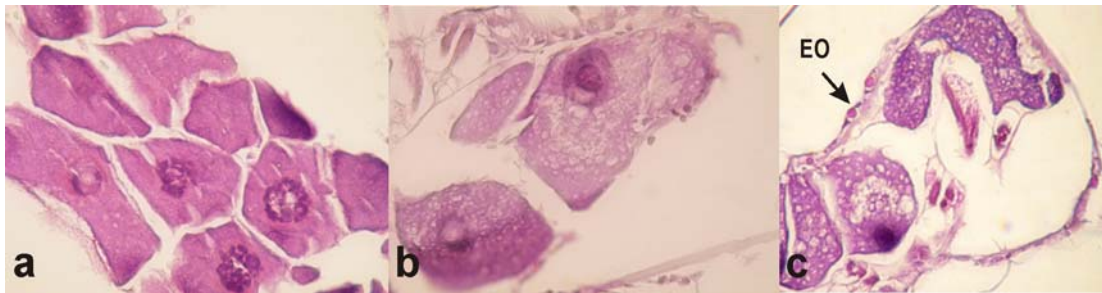


Figura 3. Estadios de maduración de ovocitos de *Moina eugeniae*. **a:** Ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos. H y E x 40. **b:** Ovocitos maduros. H y E x100. **c:** Epitelio ovárico simple plano (EO) y ovocitos maduros. H y E x 100.

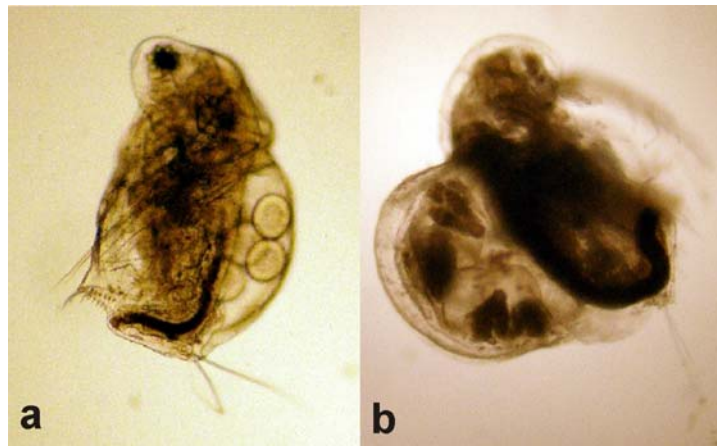


Figura 4. Fotomicrografía de hembra partenogenética de *M. eugeniae* con huevos (a) y con embriones (b). x10.

totalmente maduras con citoplasma cubierto por vitelo y gotas lipídicas.

No se observaron células foliculares acompañantes de los ovocitos ni membrana vitelina. Se acepta que este arreglo es común en las especies con reproducción partenogenética. Dicha membrana tiene por función el reconocimiento del espermatozoide de la correspondiente especie; la ausencia de machos en los sucesivos muestreos explicaría la ausencia de membrana vitelina.

Los estudios existentes sobre la biología de *Moina* en condiciones de laboratorio son escasos (Benider *et al.*, 2002) y más aún en los grupos silvestres, por lo que resulta importante determinar características morfológicas e historia de vida, para desarrollar metodologías de propagación controlada que permitan emplear a esta especie como fuente de alimento vivo en acuicultura.

BIBLIOGRAFÍA

- Benider, A., A. Tifnouti, y R. Pourriot.** 2002. Growth of *Moina macrocopa* (Strauss, 1820) (Crustacea, Cladocera): influence of trophic conditions, population density and temperature. *Hydrobiologia*, 468: 1-11.
- Brusca, R. C. y G. J. Brusca.** 2005. Invertebrados. Ed. McGrawHill - Interamericana. España, 1032 pp.
- Erkan, B. M.** 1998. Ultrastructural study on the ovarian wall and the oviduct of the *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda). *Turkish Journal of Zoology*, 22: 351-362.
- Gilbert, J. J.** 1983. Sexual dimorphism in zooplankton (Copepoda, Cladocera and Rotifera). *Annual Review of Ecology and Systematics*, 14: 1-33.
- Goulden, C. E.** 1968. The systematics and evolution of the Moinidae. *Transactions of the American Philosophical Society*, Philadelphia, 58:1-101.
- Kaestner, A.** 1968. *Invertebrate Zoology*. Vol. III. Wiley-Interscience, New York, 523 pp.
- Pastorinho, R., L. Vieira, P. Ré, M. Pereira, P. Bacelar-Nicolau, F. Morgado, J. C. Marques y U. Azeiteiro.** 2003. Distribution, production, histology and histochemistry in *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoidea) as means for life history determination in a temperate estuary (Mondego estuary, Portugal). *Acta Oecologica*, Vol. 24, Supplement 1, pp. 259-273.
- Pennak R. W.** 1978. *Cladoceros En: Fresh-water Invertebrates of the United States*. The Ronald Press Company New York, 350-387 pp.
- Prieto, M., L. De la Cruz y M. Morales.** 2006. Cultivo experimental del cladócero *Moina sp.* alimentado con *Ankistrodesmus sp.* y *Saccharomyces cereviceae*. *Revista MVZ Córdoba*, 11 (1): 705-714.
- Rottmann, R. W., J. S. Graves, C. Watson y R. P. E. Yanong.** 2003. *Culture Techniques of Moina: The ideal Daphnia for feeding to Fresh-water Fish Fry*. University of Florida. IFAS Extension, Circular 1054.
- Ruppert, E. E. y R. D. Barnes.** 1996. *Zoología de los Invertebrados*. Ed. McGraw Hill Interamericana. Méjico, 1135 pp.
- Smirnov, N. N.** 1971. Chydoridae of the world fauna. *Fauna SSSR*. (n.s.), *Rakoobraznye*, 1(2):1-531. (nauka, Lenigrad) (En ruso).
- Tennet, D. H. y T. A. Ito.** 1971. Study of the oogenesis of *Mepsilla globen* (Linnee). *Journal of Morphology*, 54:347-404.