



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

ALMACENAMIENTO Y UTILIZACIÓN DE RESERVAS
ENERGÉTICAS EN RELACIÓN CON LA REPRODUCCIÓN
DE LAS OSTRAS PERLERAS *Pteria sterna* (GOULD, 1851) Y
Pinctada mazatlanica (HANLEY, 1856).

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Con especialidad en
Uso, manejo y preservación de los recursos naturales (Orientación
Acuicultura)

Presenta:

Biol. Mar. Metodio Nicolás Vite García.

La Paz, Baja California Sur, Julio de 2005

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13⁰⁰ horas del día 7 del Mes de Julio del 2004, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Almacenamiento y utilización de reservas energéticas en las ostras perleras *Pteria sterna* y *Pinctada mazatlanica*"

Presentada por el alumno:

Metodio Nicolás Vite García

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Acuicultura

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA


Dr. Pedro E. Saucedo Lastra


Dr. Carlos J. Cáceres Martínez


Dr. Marcial Arellano Martínez


DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CONFORMACIÓN DE COMITÉS

La presente tesis fue dirigida por:

-Dr. Pedro Enrique Saucedo Lastra Centro de Investigaciones Biológicas del
Noroeste (CIBNOR).

El Comité Tutorial estuvo integrado por los siguientes miembros:

-Dr. Carlos J. Cáceres Martínez Universidad Autónoma de Baja California Sur
(UABCS).

-Dr. Marcial Arellano Martínez Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
(CICIMAR).

El Comité de sinodales estuvo integrado por los siguientes miembros:

-Dr. Pedro Enrique Saucedo Lastra Centro de Investigaciones Biológicas del
Noroeste (CIBNOR).

-Dr. Carlos J. Cáceres Martínez Universidad Autónoma de Baja California Sur
(UABCS).

-Dr. Marcial Arellano Martínez Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
(CICIMAR).

Suplente:

-Dr. Alfonso Maeda Martínez Centro de Investigaciones Biológicas del
Noroeste (CIBNOR).

RESUMEN

Las ostras perleras *Pteria sterna* y *Pinctada mazatlanica* son recursos susceptibles de ser aprovechados integralmente. Actualmente se encuentran las bases científicas para que esto suceda, sin embargo el control del proceso reproductivo, particularmente en cautiverio, continúa siendo el cuello de botella, al igual que en la mayoría de las industrias alrededor del cultivo de moluscos bivalvos. Dentro del proceso reproductivo, uno de los aspectos que ha sido poco tratado es el de la dinámica de los principales nutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas) entre los diferentes tejidos relacionados con la gametogénesis. La concha nácar y la madreperla tienen ciclos reproductivos opuestos en tiempo, por lo que se esperaba que sus estrategias en cuanto al almacenamiento y utilización de la energía bioquímica fueran también diferentes. Se realizó un análisis estacional del almacenamiento y utilización de los principales componentes bioquímicos en los tejidos involucrados con la gametogénesis, utilizando indicadores histológicos y bioquímicos. Con ayuda del análisis histológico, se confirmó la distinta temporalidad en los eventos reproductivos de las dos especies. Por medio de análisis bioquímico, se encontró en ambas especies y ambos sexos un aumento en la concentración de proteínas en el tejido gonadal durante la gametogénesis y en las hembras también se observó aumento de lípidos y triglicéridos en este tejido. Paralelo a dicho aumento, se dio un decremento en la concentración de proteína en el músculo aductor en las dos especies, y un decremento en la concentración de proteína de la glándula digestiva de la concha nácar, por lo que se sugiere que estas reservas son destinadas para cubrir las necesidades de la gónada durante su desarrollo. Ninguna de las dos especies parece tener afinidad por el almacenamiento de carbohidratos en los tejidos. En ninguna de las dos especies se encontró una participación del manto como tejido de reserva en la actividad reproductiva, ya que las variaciones en su concentración no tuvieron relación con el ciclo reproductivo. Aparentemente las reservas almacenadas en los diferentes tejidos no son suficientes para cubrir las necesidades de la gónada durante la gametogénesis, por lo que se sugiere que el alimento ingerido recientemente tiene una participación mayoritaria en este proceso. Se sugiere realizar estudios que relacionen el ciclo gametogénico con la dinámica de nutrientes en el campo para confirmar esta hipótesis.

Palabras clave: gametogénesis, ostras perleras, componentes bioquímicos.

Dr. Pedro E. Saucedo Lastra.
Director de Tesis.

ABSTRACT.

Storage and use of energetic reserves in pearl oysters *Pteria sterna* (Gould, 1851) and *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856).

Pearl oysters *Pteria sterna* and *Pinctada mazatlanica* are resources susceptible to be taken advantage of integrally. At the moment are the scientific bases so that this happens, nevertheless the control of the reproductive process, particularly in captivity, continues being the bottle neck, like in most of the industries around the culture of bivalve molluscs. Within the reproductive process, one of the aspects that have been treated very little is one of the dynamics of the main nutrients (carbohydrates, lipids and proteins) between different tissues related to the gametogenesis. *P. sterna* and *P. mazatlanica* have opposite reproductive cycles in time, reason why it is hoped that their strategies, as far as the storage and use of biochemical energy, were also different. A seasonal analysis of the storage and use of the main biochemical components was made in tissues involved in the gametogenesis process, using histological and biochemical indicators. With aid of the histological analysis, the different seasonality in the reproductive events from the two species was confirmed. By means of biochemical analysis it was found in both species and both sexes an increase in the protein concentration in the gonadal tissue during the gametogenesis process, and in the females also was observed an increase of triglycerides and lipids in this tissue. Parallel to this increase, occurred a decrement in the protein concentration in the adductor muscle in the two species, and a decrement in the protein concentration of the digestive gland of the *P. sterna*, reason why it suggests these reserves are destined to cover the gonadal necessities during its development. Neither of the two species seems to have affinity by the carbohydrate storage in tissues. Neither of the two species had a participation of the mantle like tissue of reserve in the reproductive activity, since the variations in their concentration did not have relation with the reproductive cycle. Apparently the reserves stored in different tissues are not sufficient to cover the necessities in the gonadal tissue during the gametogenesis process; reason why the food ingested recently is suggested has a majority participation in this process. It is suggested to make studies that relate the gametogenic cycle to the dynamics of nutrients in the field to confirm this hypothesis.

Key words: gametogenesis, pearl oysters, biochemical components.

A Moni, mi amor y mi vida.

A Dalai, mi luz.

A Edna

A mis padres.

A mis abuelos.

A la memoria de Pía

A Dios.

Agradecimientos.

En primer lugar agradezco a todas las personas que directa o indirectamente contribuyeron a llevar a buen término este trabajo, gracias porque cada quien ocupa un lugar muy especial, en particular:

A la Dra. Thelma Castellanos y a todo el personal del Programa de Estudios de Posgrado del CIBNOR por el apoyo incondicional durante mis estudios de Maestría.

A las autoridades de CONACYT por el otorgamiento de la beca de Maestría No. 172652 que me permitió realizar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Pedro E. Saucedo Lastra por la valiosa dirección de esta Tesis y por contribuir a mi formación y orientación en el estudio de la reproducción de moluscos bivalvos.

A los Dres. Carlos Cáceres y Marcial Arellano por sus valiosas aportaciones y sabios consejos para la mejora de esta tesis, así como su apoyo desinteresado e incondicional.

A la Compañía Perlas del Cortéz S. de R.L. MI. por la donación de especímenes de madreperla para la realización de este trabajo.

A Saúl Serrano Guzmán, Miguel Ángel Ahumada y Denhí Salinas por despertar mi interés en el estudio de los moluscos bivalvos, así como a Miguel Robles, Manuel Mazón, Alfonso Maeda y Mario Monteforte por acrecentarlo con su ejemplo y darle dirección.

A Horacio Bervera, Juan José Ramírez y Mario Cota por el apoyo en la colecta de los organismos y por los buenos momentos pasados durante las salidas en lancha y los buceos.

A los técnicos de los laboratorios de Histología e Histoquímica y de Bioquímica Fisiológica, en especial a Carmen Rodríguez y Roberto Hernández por prestarme la ayuda y consejo oportuno cuando fue requerido.

A todos los maestros que durante mis estudios de maestría contribuyeron a formarme enseñándome el camino en esta ardua tarea científica.

A mis compañeros de la maestría por su amistad y compañerismo mostrados a lo largo de estos ya casi tres años.

A mi familia, primero la pequeña, formada por el amor de mi vida, tu Moni que hemos caminado este sendero juntos en busca de nuestra felicidad, tu Dalai por llenar todo el espacio y el tiempo con tu presencia, y a ti mi próximo hijo(a) por ser fuente de mi inspiración para seguir adelante. Y a la grande que siempre esta en mi corazón, iluminándome con su amor y su respaldo.

A mi Sifu Salomón Ricalday C. por mostrarme el camino a la perfección.

A mis amigos de siempre y para siempre, ustedes saben quienes son.

Cualquier reclamación que sea sin membretes.

Contenido.

1. Introducción	1
2. Antecedentes	6
2.1 Gametogénesis en moluscos bivalvos	6
2.2 Investigación sobre reproducción de ostras perleras	10
2.3 Fisiología reproductiva de bivalvos y ostras perleras	11
3. Hipótesis	16
4. Justificación	16
5. Objetivo general	18
5.1 Objetivos particulares	18
6. Materiales y métodos	19
6.1 Colecta de organismos	19
6.2 Análisis histológico	20
6.3 Análisis bioquímico	22
6.4 Análisis energético	24
6.5 Análisis estadístico	24
7. Resultados	26
7.1 Variaciones en la temperatura del agua	26
7.2 <i>Pteria sterna</i>	27
7.2.1 Análisis histológicos	27
7.2.1.1 Proporción de sexos	27
7.2.1.2 Ciclo reproductivo	27
7.2.1.3 Análisis de ovocitos	28
7.2.2 Análisis bioquímico	31
7.2.2.1 Componentes bioquímicos de la gónada	31
7.2.2.2 Componentes bioquímicos del músculo	33
7.2.2.3 Componentes bioquímicos de la glándula digestiva	35
7.2.2.3 Componentes bioquímicos del manto	37
7.2.3 Análisis energético	40
7.3 <i>Pinctada mazatlanica</i>	43
7.3.1 Análisis histológicos	43
7.3.1.1 Proporción de sexos	43
7.3.1.2 Ciclo reproductivo	44
7.3.1.3 Análisis de ovocitos	45
7.3.2 Análisis bioquímicos	47
7.3.2.1 Componentes bioquímicos de la gónada	47
7.3.2.2 Componentes bioquímicos del músculo	50
7.3.2.3 Componentes bioquímicos de la glándula digestiva	52
7.2.3 Componentes bioquímicos del manto	54
7.3.3 Análisis energético	56
8. Discusión	59
8.1 Efecto de la temperatura en el ciclo reproductivo de las especies	59
8.2 Almacenamiento y utilización de reservas energéticas durante la gametogénesis	63
9. Conclusiones	74
10. Literatura citada	75
Anexo 1. Etapas del desarrollo gametogénico de <i>P. sterna</i> y <i>P. mazatlanica</i>	89

Lista de figuras.

- Figura 1. Variaciones en la temperatura del agua en El Merito, Bahía de la Paz, durante el periodo de estudio 2003-2004** 26
- Figura 2. Proporción de sexos del total de organismos estudiados de la especie *Pteria sterna* en El Merito, Bahía de la Paz, durante el periodo de estudio 2003-2004** 27
- Figura 3. Ciclo reproductivo de *Pteria sterna*, en El Merito, Bahía de La Paz, a lo largo del ciclo 2003-2004.** 28
- Figura 4. Variaciones estaciones en la frecuencia de ocurrencia de los tres tipos de ovocitos de *Pteria sterna*. Pre = Previtelogénicos; Vit = Vitelogénicos; Pos = Posvitelogénicos** 29
- Figura 5. Variaciones estacionales en el diámetro estandarizado de los ovocitos de *Pteria sterna* durante el ciclo 2003-2004. Promedio más desviación estándar.** 30
- Figura 6. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la gónada de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.** 32
- Figura 7. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales y proteínas en el músculo aductor de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.** 34
- Figura 8. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la glándula digestiva de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.** 36
- Figura 9. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en el manto de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.** 39
- Figura 10. Proporción de sexos del total de organismos estudiados de la especie *Pinctada mazatlanica* en El Merito, Bahía de la Paz, durante el periodo de estudio 2003-2004.** 43

Figura 11. Corte histológico de un organismo de <i>P. mazatlanica</i> en proceso de cambio de sexo de macho a hembra; OD: ovocitos en desarrollo; EzR: espermatozoides residuales. Barra = 50 μm.	44
Figura 12. Ciclo reproductivo de <i>Pinctada mazatlanica</i>, en El Merito, Bahía de La Paz, a lo largo del ciclo 2003-2004.	45
Figura 13. Variación temporal en la frecuencia de los tres tipos de ovocitos de <i>Pinctada mazatlanica</i>. Pre = Previtelogénicos; Vit = Vitelogénicos; Pos = Posvitelogénicos.	46
Figura 14. Variaciones estacionales en el diámetro estandarizado de los ovocitos de <i>Pinctada mazatlanica</i> durante el ciclo 2003-2004. Promedio más desviación estándar.	47
Figura 15. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la gónada de <i>Pinctada mazatlanica</i> a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.	48
Figura 16. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales y proteínas en el músculo abductor de <i>Pinctada mazatlanica</i> a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.	51
Figura 17. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la glándula digestiva de <i>Pinctada mazatlanica</i> a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.	53
Figura 18. Variaciones estaciones en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la manto de <i>Pinctada mazatlanica</i> a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.	55
Figura 19. Corte histológico de una gónada de <i>P. mazatlanica</i> en estadio de indiferenciación sexual. Fg: fagotitos; TC: Tejido conjuntivo; MR: material remanente. Barra = 50 μm	90
Figura 20. Cortes histológicos de gónada de hembra (arriba) y macho (abajo) de <i>P. mazatlanica</i> en estadio de desarrollo. OPr: ovocitos previtelogénicos; OVi: ovocitos vitelogénicos; Eg: Espermatogonias; Ec1-2: espermaticitos de primero y segundo orden; Em: espermátida; Ez: espermatozoides. Barra = 50 μm	91

- Figura 21. Cortes histológicos de gónada de hembra (izq.) y macho (der.) de *P. sterna* en estadio de madurez. OVi: ovocitos vitelogénicos; OPo: ovocitos posvitelogénicos; Ez: espermatozoides. Barra = 50 μ m** 92
- Figura 22. Corte histológico de gónada macho de *P. sterna* en estadio de desove parcial. EzR: espermatozoides residuales. Barra = 50 μ m** 93
- Figura 23. Cortes histológicos de gónada de hembra (izq.) y macho (der.) de *P. sterna* en estadio de post-desove. OR: ovocitos residuales; EzR: espermatozoides residuales; Fg: Fagotitos; MR: Material remanente. Barra = 50 μ m** 94

Lista de Tablas

Tabla I. Variaciones en el contenido energético aportado por cada componente bioquímico en los diferentes tejidos de <i>P. sterna</i> durante los diferentes estadios gametogénicos.	42
Tabla II. Variaciones en el contenido energético aportado por cada componente bioquímico en los diferentes tejidos de <i>P. mazatlanica</i> durante los diferentes estadios gametogénicos.	58

1. Introducción.

Durante las últimas décadas, la acuicultura ha significado una actividad de creciente importancia, tanto en el mundo entero, como en nuestro país. Ello debido principalmente a la escasez de recursos bióticos aprovechables, como resultado de la sobreexplotación de las poblaciones naturales de muchos organismos acuáticos, así como al surgimiento de nuevas técnicas, producto del avance e innovación científica y tecnológica, que hacen de esta actividad una alternativa de producción para varios sectores, entre los que destaca el sector pesquero.

En México, la producción acuícola global está representada por especies dulceacuícolas y marinas, entre las que destacan la tilapia, mojarra, carpa, trucha, bagre, ostión y camarón, y en el año 2000 constituyó el 13.4 % de la producción pesquera nacional y el 25.7% del valor de la producción pesquera (SAGARPA, 2001; Anuario Estadístico de Pesca 2000). Los mayores productores son los estados de Veracruz y Tabasco (especializados en ostión), Sinaloa y Sonora (entidades productoras de camarón) y Michoacán (que cría carpa en primer término). En relación al litoral del Pacífico mexicano la producción en materia de acuicultura se encuentra sumamente concentrada en unos cuantos productos, siendo el camarón, por mucho, el principal producto, ya que aporta el 45.2% del volumen de producción y el 85.5% del valor generado, es decir 31 441 toneladas y \$1,961 millones de pesos. En este sentido, los estados de Sinaloa y Sonora son los principales productores, con el 53.8 % y 39.8 % del volumen cultivado, respectivamente. Económicamente, la producción de mojarra es la segunda en importancia, con el 41.6% del volumen total y el 9.7 % del valor total de producción, y el ostión es el cuarto producto de mayor peso en la región, detrás de la

carpa, aportando el 1.9 % del volumen total y el 0.91 % del valor productivo (SAGARPA, 2001; Anuario Estadístico de Pesca 2000).

Con base en lo anterior, se observa que la acuicultura está muy poco desarrollada en nuestro país en relación al potencial con que se cuenta, no obstante, México posee tres grandes ventajas en este sentido: 1) una línea costera de cerca de 11, 500 km; 2) muchas especies acuáticas susceptibles de ser aprovechadas de manera sustentable, y 3) un gran número de gente necesitada de una actividad productiva. Dentro de los grupos de animales que han recibido poca atención encontramos a los moluscos bivalvos, que por sus hábitos sedentarios y de alimentación a base del medio natural, son de fácil manejo y su cultivo representa una actividad rentable en varias partes del mundo donde se ha dado un importante avance en cuanto a cultivo se refiere, principalmente de algunos grupos como ostreidos, pectinidos y mitilidos. Tan solo en el estado de Baja California Sur, existen no menos de diez especies de bivalvos que presentan un alto potencial de explotación comercial, tales como: la almeja catarina (*Agropecten ventricosus*), la almeja voladora (*Pecten vogdesi*), la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), el callo de hacha (*Pinna rugosa* y *Atrina maura*), las almejas blanca (*Megapitaria aurantiaca*) y chocolata (*M. squalida*), y las ostras perleras *Pteria sterna* (Gould, 1851) y *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), conocidas comúnmente como concha nácar y madreperla, entre las más importantes (Saucedo, 2001).

Las ostras perleras mencionadas, objeto de estudio de esta tesis, son moluscos bivalvos del orden Pterioidea, familia Pteriidae. Ambas especies tienen conchas cuya cara interna está formada por nácar iridiscente que se utiliza para producir perlas de gran calidad (Keen, 1979). Estas especies son susceptibles de ser aprovechadas integralmente, ya que además de la producción de perlas, que les confiere su principal

atractivo, se aprovecha también la concha para trabajos de ornato. Igualmente, el nácar es utilizado en la industria cosmética y farmacéutica para la elaboración de cremas de belleza; el músculo abductor puede destinarse para consumo humano en diferentes presentaciones y el resto del cuerpo para la alimentación y engorda de animales de importancia comercial (Monteforte, 1990, Saucedo, 2001).

Por todo lo anterior, la industria perlera representa la actividad acuacultural de mayor rentabilidad en el mundo, cuyas actividades derivadas generan aportaciones sumamente considerables al producto interno bruto de algunos países como Japón, Polinesia Francesa y Australia. De hecho, algunos países con tradición perlera basan la mayor parte de su economía en el cultivo de ostras perleras (nacaricultura) y de perlas (perlicultura). Entre éstos se encuentran Polinesia Francesa, Islas Cook, Islas Marshall, Tonga, Kiribati y otros del sudeste asiático, en los cuales familias enteras se benefician de estas dos actividades acuaculturales integrales (Gervis y Sims, 1992; Monteforte, 1996; Fassler, 1991, 1995).

México presenta el potencial para que la nacaricultura y perlicultura se conviertan en actividades productivas importantes que pudieran involucrar a diferentes sectores de la sociedad. Actualmente, se cuenta con bases sólidas para que esto suceda, ya que se ha logrado desarrollar la tecnología para las diferentes etapas del cultivo extensivo, desde la colecta de semilla del medio natural, la preengorda de juveniles y el cultivo tardío de adultos hasta su utilización en la producción de medias perlas o “mabes” en la madreperla *P. mazatlanica* y la concha nácar *P. sterna*, con base en las características particulares de cada especie (Cáceres et al., 1992; Gaytán-Mondragón et al., 1993; Monteforte y García-Gasca, 1994; Monteforte et al., 1994; Rangél y Chávez, 1994; Monteforte et al., 1995; McLaurin et al., 1997, 1999). Igualmente, algunos aspectos

relacionados con el cultivo en laboratorio han sido abordados recientemente, tales como el acondicionamiento gonadal de reproductores y el seguimiento del desarrollo larvario de *P. mazatlanica* y *P. sterna* hasta la fijación (Serrano-Guzmán y Salinas-Ordáz, 1993; Saucedo, 2001; Saucedo et al., 2001; Martínez-Fernández et al., 2003; Saucedo et al., 2005). Esta tecnología es susceptible de ser transferida al sector productivo del país. Sin embargo, es justo señalar que el cultivo en laboratorio y la producción intensiva de semilla, particularmente de *P. mazatlanica*, siguen representando a la fecha un cuello de botella para su desarrollo. Por lo tanto, es necesario seguir investigando para consolidar una tecnología que permita mantener organismos reproductores en el laboratorio, madurarlos para obtener gametos y larvas viables, pero particularmente para asegurar una producción constante de semilla lista para ser trasladada al mar en condiciones de sobrevivir. Únicamente de esta manera se puede asegurar un apoyo importante a las granjas comerciales.

En ese sentido, el proceso reproductivo continúa siendo uno de los puntos centrales en la investigación que rodea a las ostras perleras, y dentro de ésta encontramos algunos aspectos que han sido escasamente documentados. La fisiología de la reproducción es una respuesta a factores endógenos (neuronal, hormonal) y exógenos (p.g. temperatura, luz, alimento disponible, salinidad), que se ve reflejada en procesos de síntesis, almacenamiento, transformación, movilización y utilización de energía, con el fin de llevar a cabo la gametogénesis (Sastry, 1979; Barber y Blake, 1981). El conocer los sitios o tejidos de síntesis y almacenamiento, la concentración de los principales metabolitos utilizados, así como las estrategias utilizadas para su transformación y transferencia de los tejidos de reserva hacia la gónada, permitirá comprender de mejor manera la dinámica del proceso reproductivo de estos organismos, así como también

aportará elementos de juicio en la toma de decisiones en cuanto al manejo de reproductores en los criaderos productores de semilla.

Se realizó un análisis del almacenamiento y utilización de las principales reservas energéticas (proteínas, carbohidratos, lípidos totales y triglicéridos) en aquellos tejidos relacionados con la gametogénesis (gónada, glándula digestiva, músculo aductor y manto), en las ostras perleras *P. sterna* y *P. mazatlanica*, describiendo mediante indicadores histológicos y bioquímicos, las variaciones en los metabolitos presentes en cada estadio del ciclo reproductivo de cada especie. Este es el primer estudio de su tipo que se realiza con *P. sterna* y el segundo con *P. mazatlanica*.

2. Antecedentes.

2.1 Gametogénesis en moluscos bivalvos

En todos los moluscos existen diferentes fases en un ciclo reproductivo. A pesar de las variaciones entre los distintos grupos, en general se incluyen períodos de reposo en la actividad reproductiva (períodos vegetativos), períodos de activación y diferenciación celular, de crecimiento citoplasmático, de vitelogénesis (maduración), de puesta (liberación de gametos al medio ambiente) y de reabsorción de los restos de gametos residuales que no se han liberado en la puesta, con el fin de reciclar los nutrientes (atresia ovocitaria) (Barber y Blake, 1991; Román et al., 2001). También a veces, por extensión, se incluyen procesos de fecundación, embriogénesis, y desarrollo larvario.

Ovogénesis.

En los moluscos con fecundación externa, la meiosis de los ovocitos no culmina sino hasta momentos antes o después del proceso de fertilización en el medio marino (ello depende de la especie de la que se trate). El desarrollo interno de los gametos tiene lugar hasta la primera profase de la meiosis, misma que se detiene concretamente en la etapa de diploteno y se reanuda hasta el momento arriba referido (Giese y Pearse, 1974; Bayne, 1976).

De acuerdo a Dorange y Le Pennec (1989a), quienes estudiaron la ovogénesis de *Pecten maximus* utilizando microscopía electrónica, este proceso se puede dividir en tres estadios: premeiótico, previtelogénico y vitelogénico:

Estadio premeiótico: las células madre o germinales, localizadas en las inmediaciones de las paredes foliculares, dan origen a las ovogonias primarias. El núcleo de estas células presenta cromatina condensada en pequeños cúmulos y con una distribución periférica. En su interior a veces es también visible un nucleolo y en el citoplasma se localizan algunas mitocondrias y cisternas del retículo endoplásmico. Estas ovogonias primarias proliferan, por mitosis, dando lugar a ovogonias secundarias. A esta etapa se le llama premeiótica debido a que en ellas suceden únicamente divisiones mitóticas (Dorange y Le Penec, 1989a; Román et al., 2001).

Estadio previtelogénico: durante la previtelogénesis, las ovogonias comienzan a crecer y tanto el núcleo como el citoplasma se incrementan en volumen. Las ovogonias secundarias entran en la primera profase de la meiosis dando origen a los ovocitos previtelogénicos. Se observan ovocitos en estadio de leptoteno (desaparece el nucleolo y los cromosomas se hacen visibles), zigoteno, paquiteno (se aprecia la presencia de los complejos sinaptonémicos) y diploteno (reaparece el nucleolo y se ven extrusiones nucleares ricas en ribonucleoproteínas). Al alcanzarse estos estadios intermedios de la profase meiótica (paquiteno y diploteno) las células auxiliares, de carácter nutritivo, emigran desde la periferia de los folículos hasta unirse estrechamente a los ovocitos, los cuales se estiran y desarrollan prolongaciones a modo de pseudópodos. Su núcleo tiene una eucromatina muy densa y cúmulos de heterocromatina condensada en la periferia del núcleo. A veces presentan también uno o dos grandes nucleolos. El citoplasma de estas células puede contener inclusiones densas de tipo lisosomal (Dorange y Le Penec; 1989a).

Estadio vitelogénico: bloqueados en el estadio de diploteno de la primera profase meiótica, los ovocitos entran en vitelogénesis. Durante este período los ovocitos crecen muy rápidamente, principalmente debido a la acumulación de vitelo, compuesto de carácter glucolipoprotéico debido a que está formado por sustancias nutritivas tales como glucógeno, lípidos y proteínas. Dichas sustancias de reserva sirven tanto como combustible para auxiliar la ovogénesis, como para proporcionar al embrión todos los componentes nutritivos necesarios para su desarrollo (Holland, 1978; Mackie, 1984; Dorange y Le Penec, 1989a). De dichos nutrientes, los lípidos y las proteínas forman las principales reservas vitelinas y están destinadas a cubrir los requerimientos energéticos de los estadios embrionarios y larvarios. La dinámica de estas sustancias de reserva durante la vitelogénesis constituye un excelente indicador de las necesidades nutritivas del huevo (Holland, 1978).

En *P. maximus*, durante la vitelogénesis las células auxiliares pegadas a los ovocitos se desarrollan y modifican. Su característica estructural más importante es la presencia de un retículo endoplasmático muy abundante y desarrollado, lo cual refleja una importante actividad de síntesis de proteínas. Cuando los ovocitos están maduros se separan de las células auxiliares, el citoplasma de estas células comienza a vacuolarizarse y aparecen figuras de mielina, lo que es indicativo de la ruptura de las membranas de estas células (Dorange y Le Penec, 1989a). Al final de la vitelogénesis, se forma en los ovocitos una delgada membrana vitelina llamada vesícula germinal, la cual se separa ligeramente de la membrana plasmática por medio de un espacio vitelino (Dorange y Le Penec, 1989a). La aparición de la membrana vitelina es indicativo de la proximidad del desove.

Espermatogénesis.

A grandes rasgos, la espermatogénesis comienza con una célula madre dividiéndose mitóticamente, y dando origen a espermatogonias primarias. Estas células crecen y se dividen, resultando en espermatogonias secundarias, que se diferencian nuevamente en espermatocitos primarios. Subsecuentemente, dos divisiones meióticas producen primero espermatocitos secundarios, y posteriormente espermátidas haploides (que aún son inmaduras puesto que carecen de cauda). Las espermátidas, de menor tamaño, entran entonces al proceso de espermiogénesis, el cual consiste en la formación de la cola y la diferenciación en espermatozoides maduros (Giese y Pearse, 1974; Bayne, 1976; Sastry, 1979; Mackie, 1984; Strathmann, 1987; Román et al., 2001).

Los gametos en desarrollo, al igual que en el caso de la ovogénesis, se encuentran agrupados en acinos. Tres tipos de células se pueden observar en las paredes de los acinos: células madre o germinales, espermatogonias y las células auxiliares, que igual que en la ovogénesis, son células que no pertenecen a la línea germinal pero que intervienen también en el proceso de la espermatogénesis (Dorange y Le Penneç, 1989b).

Como ya se mencionó, podemos encontrar espermatogonias primarias y secundarias: las primeras son las células de mayor tamaño de toda la línea germinal masculina y presentan un núcleo con cúmulos dispersos de cromatina y con uno o dos nucleolos; en su citoplasma se observan numerosas mitocondrias de formas variables. Las mitosis en estas células suelen ser frecuentes al comienzo de la gametogénesis. Las espermatogonias secundarias no son fáciles de distinguir de las primarias al microscopio óptico, aunque son de tamaño algo menor por reducción de su citoplasma. Los cúmulos de cromatina son más densos que en las espermatogonias primarias. Estas últimas

células son muy numerosas al comienzo de la época de madurez sexual. Como se dijo previamente, las espermatogonias secundarias son las células que se diferencian a espermatocitos. La segunda división meiótica, que da origen a las espermátidas jóvenes, ocurre mucho más rápido que la primera. La espermátida joven experimenta un proceso de diferenciación que la convierte en una espermátida vieja y posteriormente en un espermatozoide maduro (Mackie, 1984; Strathmann, 1987; Dorange y Le Penne, 1989b).

2.2 Investigación sobre reproducción de ostras perleras.

En el caso de los miembros de la familia Pteriidae (ostras perleras), se han realizado en el mundo importantes esfuerzos que han permitido caracterizar la biología reproductiva de las principales especies de importancia comercial. Así, se encuentran trabajos sobre *P. maxima* (Wada, 1953 a, b; Rose, 1990; Rose et al., 1991), *P. albina* (Tranter, 1958 a, b, c); *P. margaritifera* (Thielley et al., 1989) y *P. fucata* (Chellam, 1987; Behzadi et al., 1997), en los cuales se describen las características morfológicas de los órganos reproductores de estas especies y se caracteriza el ciclo reproductivo en base principalmente a análisis histológicos. Estas investigaciones demuestran que el proceso de gametogénesis coincide, en lo general, con la mayoría de las especies de moluscos bivalvos descritos anteriormente. La principal diferencia sería la temporalidad con la que ocurren los principales eventos reproductivos, los cuales dependen de la distribución geográfica latitudinal de cada especie.

En el caso de las especies aquí estudiadas, a partir del trabajo pionero de Sevilla (1969), seguido de aquellos de Hernández-Díaz (1993); Arizmendi-Castillo (1996), García-Domínguez (1996), y Saucedo y Monteforte (1997), se ha establecido que *P. sterna* y *P. mazatlanica* son especies cuyos sexos se encuentran separados (dioicos),

pero la evidencia indica que se trata de organismos con hermafroditismo protándrico, es decir, que su primera maduración la realizan como machos y posteriormente pueden o no cambiar de sexo a determinada talla/edad y en función de factores endógenos y/o exógenos diversos. En las investigaciones citadas, se ha advertido de la presencia de organismos indiferenciados, y se sugiere que estos pueden encontrarse en una etapa de reposo en la actividad reproductiva y/o en proceso de cambio de sexo. Sin embargo, la etapa de indiferenciación parece no ser obligada para el cambio de sexo, ya que se han encontrado organismos con gametos tanto femeninos como masculinos en la misma gónada, los primeros en desarrollo y los segundos en regresión o atrofia.

La madreperla y la concha nácar son especies que aparentemente se encuentran sujetas a ciclos reproductivos distintos en tiempo; para la primera de ellas ocurre, desde la gametogénesis al desove, principalmente en los meses cálidos del año (abril a octubre en promedio) cuando la temperatura del agua oscila entre 23 a 30 °C, por lo que se dice que tiene una afinidad tropical (Sevilla, 1969; Arizmendi-Castillo, 1996; García-Domínguez, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997). Por su parte, *P. sterna* presenta desoves continuos a lo largo de todo el año, aunque con mayor intensidad en los meses fríos del año (noviembre a febrero) con temperaturas de 17 a 24 °C. (Hernández-Díaz, 1993; Arizmendi-Castillo, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997).

2.3 Fisiología reproductiva de bivalvos y ostras perleras.

Durante las últimas tres décadas se ha recabado información suficiente para establecer que los bivalvos marinos presentan ciclos de almacenamiento y utilización de energía, los cuales se encuentran estrechamente relacionados con los ciclos reproductivos, y estos a su vez, con las variaciones en las características ambientales (Giese, 1969;

Sastry y Blake, 1971; Ansell, 1974; Gabbott, 1976, 1983; Bayne, 1976; Barber y Blake, 1981, 1991, Robinson et al. 1981; Epp et al., 1988; Couturier y Newkirk, 1991; Racotta et al., 1998, 2003, entre otros). La mayoría de las especies tienen la capacidad de almacenar reservas nutritivas en sus tejidos corporales durante periodos de elevado suministro de alimento, las cuales son movilizadas durante momentos de escasez alimenticia, decremento en las tasas de alimentación, y/o elevadas demandas de energía (Barber y Blake 1981, 1991; Epp et al. 1988; Mathieu y Lubet, 1993).

La energía es generalmente almacenada en uno o más componentes corporales en forma de sustratos de carbohidratos, proteínas o lípidos cuando el alimento ingerido excede los requerimientos básicos de mantenimiento (Barber y Blake, 1985, 1991; Couturier and Newkirk, 1991; Martínez, 1991; Pazos et al., 1996). La gametogénesis, en particular, representa un período de alta demanda de energía; además, en muchos bivalvos el crecimiento y el desarrollo gonadal suceden de manera simultánea. Por lo tanto, en este período los costos energéticos, tanto de mantenimiento como de la producción de gametos, deben ser satisfechos por el consumo de alimento, las reservas nutritivas o una combinación de ambas (Zandee et al., 1980; Mathieu y Lubet, 1992; Barber y Blake, 1991).

Como se mencionó, en varias de las especies de bivalvos, los ciclos reproductivos se encuentran acoplados con los ciclos de almacenamiento y utilización de energía de los diferentes tejidos, pero éstos varían en relación con factores endógenos y exógenos entre especies, e incluso entre poblaciones de la misma especie (Epp et al. 1988; Barber y Blake, 1991). Así, los tejidos de almacenamiento de energía de estos organismos se encuentran sujetos a variaciones estacionales, tanto en su composición bioquímica, como en su estructura celular, por lo general en relación con el ciclo sexual. La función

de los tejidos de reserva puede ser dividida en dos distintas fases: (1) una fase de almacenamiento de nutrientes y, (2) una fase de movilización de éstos. Los mecanismos involucrados en estas dos fases, así como la naturaleza bioquímica del material almacenado, varían también entre las especies y entre poblaciones de una misma especie (Mathieu y Lubet, 1992). Además de la utilización directa y movilización de los principales componentes para satisfacer la demanda metabólica y estructural, se dan procesos de transformación y síntesis de estos metabolitos, como es el caso de la lipogénesis a partir de carbohidratos (glucógeno) del músculo (Gabott, 1975, Racotta et al., 1998).

Entre los tejidos de almacenamiento se ha mencionado en reiteradas ocasiones que el músculo aductor es el órgano más importante en cuanto al almacenamiento de glucógeno y proteína, mientras que la glándula digestiva funciona como sitio de almacenamiento de lípidos (Barber y Blake, 1991; Racotta et al., 1998). Igualmente, se ha sugerido que el manto puede jugar también un rol secundario como tejido de reserva en algunos bivalvos (Bayne, 1976; Gabbott, 1983; Gabbott y Peek, 1991). En términos de almacenamiento de nutrientes, en la mayoría de los bivalvos, el rol de los carbohidratos es predominante en relación al suministro inmediato de energía destinada a la reproducción. El almacenamiento de proteínas es importante también, particularmente para la construcción del vitelo durante la ovogénesis (Mackie, 1984). En relación a los lípidos, se sabe que tienen importantes funciones, no únicamente como elementos estructurales de las membranas celulares, sino también como metabolitos de importancia que contribuyen a la viabilidad de los gametos y el éxito de las subsiguientes etapas del desarrollo embrionario y larvario de las especies (Gallager y Mann, 1986; Gallager et al., 1986). Igualmente, los lípidos juegan un rol preponderante

en la formación del vitelo durante la ovogénesis y actúan como precursores en la síntesis de hormonas. Por estos motivos, los lípidos han sido utilizados en diversas ocasiones como indicadores de la calidad de los huevos (Gabbott, 1976; Holland, 1978; Zandee et al., 1980; Gallager y Mann, 1986; Gallager et al., 1986; Epp et al., 1988; Besnard, 1991; Barber y Blake, 1991; Mathieu y Lubet, 1992; Racotta et al., 1998; Racotta et al., 2003; Rodríguez-Jaramillo et al., 2004; Gómez-Robles et al., 2005). Tomando en cuenta la composición específica de los lípidos, se ha demostrado que los triglicéridos funcionan como lípidos de reserva debido a que contienen ácidos grasos que generalmente se encuentran saturados o reducidos y contienen gran cantidad de energía en sus dobles enlaces (Soudant et al., 1996).

Bayne (1976) propone una clasificación para los moluscos bivalvos en relación a las estrategias para la obtención y utilización de la energía para la reproducción, la cual resulta útil para comprender el proceso de manera general. De acuerdo con el citado autor, las especies “oportunistas” son aquellas que utilizan, para la formación de las gónadas, energía obtenida recientemente del seston, mientras que las especies conservadoras son aquellas que producen sus gónadas a costa de los componentes bioquímicos almacenados en los principales tejidos, energía previamente almacenada durante los períodos de elevado suministro de alimento.

Con respecto a las ostras perleras, son escasos los estudios sobre fisiología reproductiva en estas especies, por ejemplo el trabajo de Saucedo et al (2002) toma en cuenta este aspecto; este trabajo identifica dos picos de maduración en *P. mazatlanica*, el primero y más importante de ellos en primavera (marzo a mayo), en el cual el crecimiento de la gónada se realiza a expensas de las reservas proteicas del músculo, las cuales son movilizadas de manera muy activa. Igualmente, la formación de gametos

ocurre en esta primera mitad del año a partir de los carbohidratos ingeridos en la dieta, así como de las reservas proteínicas del músculo y la glándula digestiva. En el segundo pico de madurez en verano (julio-agosto), por el contrario, los carbohidratos del músculo resultaron ser el único substrato movilizado para el crecimiento de la gónada. También se encontró una correlación positiva entre el contenido de lípidos del tejido gonadal y el área de los ovocitos. Los autores recomiendan acerca de la necesidad de conocer dos aspectos de importancia: 1) las variaciones en el contenido de reservas energéticas del manto, para entender el rol que juega este tejido durante la gametogénesis, 2) el ciclo de utilización de reservas energéticas en la otra especie de ostra perlera *P. sterna*.

3. Hipótesis.

La madreperla y la concha nácar presentan ciclos reproductivos opuestos en tiempo y se espera, por tanto, que reflejen estrategias reproductivas diferentes. Se plantean diferencias en ambas especies en cuanto a: 1) la participación individual de cada tejido de reserva (incluyendo la gónada) en el proceso de gametogénesis y 2) la utilización de las reservas endógenas para satisfacer la demanda nutritiva durante la gametogénesis. Se espera también que *P. mazatlanica* refleje más una estrategia reproductiva de tipo conservadora, mientras que *P. sterna* de tipo oportunista.

4. Justificación.

Uno de los principales obstáculos para el establecimiento de una industria basada en el cultivo de moluscos bivalvos, constituye el hecho de que la disponibilidad de semilla o juveniles de las diferentes especies es errática e impredecible año con año (si el abasto es a partir de colecta en el campo) y/o limitada (si la producción es en laboratorio a partir de adultos obtenidos maduros del medio natural durante una corta temporada del año). Por lo tanto, resulta imprescindible desarrollar una tecnología adecuada para la reproducción controlada de las diferentes especies en el laboratorio durante cualquier temporada del año. En ese sentido, uno de los aspectos más importantes que deben ser atendidos es lo que respecta al mantenimiento de los reproductores en el criadero, ya que de ello depende que se obtengan embriones y larvas viables y con un suministro de reservas suficiente para enfrentar las primeras etapas de desarrollo.

Ahora bien, una de las claves para definir los requerimientos básicos de un reproductor en el laboratorio, es estudiando la dinámica de los componentes bioquímicos durante cada una de las etapas que conforma el ciclo reproductivo en la

naturaleza. Ello permitirá establecer criterios del estado fisiológico (o indicadores de calidad) en el que se encuentren los organismos bajo manejo en condiciones controladas o de laboratorio, así como de los ovocitos durante su desarrollo, lo cual aportará elementos importantes para la toma de decisiones.

5. Objetivo general.

Estudiar el almacenamiento y utilización de los principales componentes bioquímicos (carbohidratos, proteínas y lípidos), en aquellos tejidos relacionados con la gametogénesis (gónada, músculo, glándula digestiva y manto), en las ostras perleras *Pteria sterna* y *Pinctada mazatlanica*, utilizando indicadores histológicos y bioquímicos.

5.1 Objetivos particulares.

- Describir el efecto de la temperatura del agua sobre la actividad reproductiva de *P. sterna* y *P. mazatlanica* durante el ciclo 2003-2004 en poblaciones mantenidas bajo cultivo extensivo en El Merito, Bahía de La Paz.
- Estudiar, mediante análisis histológico, la temporalidad de los principales estadios del ciclo reproductivo de ambas especies (previamente descritos por otros autores para la misma zona de estudio) y las variaciones en la proporción sexual, frecuencia de ocurrencia y talla de ovocitos durante la gametogénesis.
- Determinar las variaciones estacionales en la concentración de proteínas, carbohidratos, lípidos y triglicéridos en la gónada, glándula digestiva, músculo y manto de machos, hembras y organismos indiferenciados de ambas especies.
- Realizar un análisis de las variaciones en el contenido energético por gramo de tejido, en relación a los distintos estadios reproductivos de ambas especies.
- Comparar las estrategias reproductivas de *P. sterna* y *P. mazatlanica* a partir de la información sobre variaciones en los indicadores histológicos y bioquímicos.

6. Materiales y métodos.

6.1 Colecta de organismos.

Se realizaron cuatro colectas estacionales con diferencia de dos meses para cada especie, cubriendo en ambos casos un ciclo anual de estudio. Concretamente, para *P. mazatlanica* los muestreos se realizaron en los meses de mayo, agosto y noviembre de 2003 y febrero de 2004. Para *P. sterna* los meses muestreados fueron julio y octubre de 2003 y enero y abril de 2004. La decisión de realizar muestreos estacionales en lugar de mensuales obedeció a dos razones importantes: 1) no se tenía mucha disponibilidad de ostras en cultivo para cubrir muestreos mensuales; y 2) los ciclos reproductivos de ambas especies ya han sido descritos con anterioridad, por lo que solo era necesario confirmar la temporalidad de los principales eventos reproductivos y relacionarlos con el almacenamiento y utilización de reservas energéticas.

Los organismos de la especie *P. sterna* se colectaron de la Granja Experimental Submarina del CIBNOR, localizada en la Caleta El Merito, y los de *P. mazatlanica* fueron donados por la Compañía Perlas del Cortéz S. de R.L. MI y mantenidas en la granja del CIBNOR. Ambas granjas se ubican en la costa suroeste de la Bahía de La Paz (24°16'N; 110°19'W). La granja donde se mantuvieron los organismos está compuesta de una estructura tubular tipo andamio anclada a una profundidad aproximada de 10 m. Sobre la estructura son colocadas las artes de cultivo que consisten en cajas de malla metálica recubierta de plástico. Se utilizaron los datos de temperatura de un sensor (termógrafo) colocado en la granja de cultivo a partir de marzo de 2003, el cual registra la temperatura del agua cada tres horas.

Durante cada muestreo se colectaron 20 organismos adultos con talla promedio de 10.1 ± 0.9 mm (para *P. sterna*) y 13.5 ± 1.4 mm de altura de la concha (para *P.*

mazatlanica), los cuales fueron limpiados de organismos epibiontes y trasladados inmediatamente al Laboratorio de Histología del CIBNOR.

Se registró la altura de los organismos, considerada como la máxima dimensión de la ostra medida en ángulo recto a la línea de la charnela y excluyendo los procesos de crecimiento. Posteriormente, se realizó la disección *in vivo* de los organismos, para extraer muestras pareadas del complejo gónada-glándula digestiva, manto y músculo abductor. De éstos, la gónada-glándula digestiva se preservó de manera individual en solución Davidson por 48 h con el fin de ser utilizada para los análisis histológicos (inciso 6.2). El resto de los tejidos (incluyendo también la gónada-glándula digestiva) se conservaron en congelación a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para ser destinadas a los análisis bioquímicos (inciso 6.3).

6.2 Análisis histológico.

Para la obtención de laminillas histológicas, las muestras de gónada fueron procesadas mediante la técnica histológica convencional descrita por Howard y Smith (1983), la cual consiste, en términos generales, en deshidratación con una serie ascendente de alcoholes etílicos (70-100%), inclusión en parafina (Paraplast 56 $^{\circ}\text{C}$), cortes a 3-4 μm con microtomo automático de rotación Leica RM 2155 a lo largo del eje anteroposterior y tinción con la técnica de hematoxilina-eosina. Se determinó el estado de madurez o desarrollo gonádico, utilizando para ello la clasificación propuesta en un inicio por Tranter (1958a, b) para la ostra perlera *P. albina*, que posteriormente ha sido adoptada por Saucedo y Monteforte (1997) para *P. mazatlanica* y *P. sterna*. Los autores distinguen 5 estadios de madurez de la gónada: 1) indiferenciado o inactivo, 2) desarrollo activo, 3) madurez, 4) desove parcial y 5) post-desove o vacía. En general,

las características citológicas más relevantes de cada estadio se describen e ilustran en el Anexo 1.

Paralelamente al análisis histológico, los ovocitos de las hembras en etapas de desarrollo y madurez fueron clasificados por su tamaño de acuerdo a su fase de desarrollo celular siguiendo la terminología propuesta por De Galuejac et al. (1995) para el bivalvo *Pina nobilis*: 1) ovocitos previtelogénicos (7-19.9 μm), 2) ovocitos vitelogénicos (20-31.9 μm) y 3) ovocitos post-vitelogénicos (32-51 μm). En todos los casos se consideraron únicamente células con núcleo y que no estuvieran rotas. Para cada tipo de ovocito, se evaluaron las variaciones en la frecuencia de ocurrencia en cada muestreo. Para ello, se capturaron imágenes a 20 \times y 40 \times utilizando un sistema de análisis digital de imágenes, integrado por un microscopio compuesto Olympus BX41 y una cámara digital CoolSnap-Pro, ésta última conectada a una computadora Pentium III con ayuda del programa Image-Pro Plus™ (vers. 4. 5). Para el caso de la frecuencia, se capturaron imágenes de tres campos visuales elegidos al azar por cada ovario estudiado y se contó el número de ovocitos de cada tipo presentes por campo (Grant y Tyler, 1983). Para la determinación de la talla de los ovocitos se utilizó el programa SigmaScan Pro™ (vers. 5.0), con el cual se puede obtener una medida precisa de cada ovocito trazando su contorno con el ratón de la computadora. Posteriormente, con los datos del área de los ovocitos y la fórmula del área de la circunferencia se obtuvo una medida estandarizada del diámetro de los ovocitos:

$$DE = \sqrt{4A/\pi}$$

donde,
DE = diámetro estandarizado
A = área
 $\pi = 3.1416$

6.3 Análisis bioquímico.

El primer paso en el análisis de componentes bioquímicos de la gónada, músculo, glándula digestiva y manto de ambas especies fue la liofilización de 0.1 g de cada tejido para obtener el peso seco de las muestras. Posteriormente, se agregó 1.0 ml de solución salina (NaCl 35 ‰) y se procedió a la homogenización de las muestras para la obtención de un extracto crudo, el cual fue almacenado a -80 °C y utilizado directamente para los análisis correspondientes, como a continuación se detalla:

Determinación de carbohidratos totales.

Para la determinación de la concentración de hidratos de carbono en los diferentes tejidos se siguió la técnica de Van Handel (1965). En primer lugar, se utilizó 0.1 ml de del extracto crudo y se mezcló con 0.1 ml de ácido tricloracético (TCA) al 20 % (dilución 1:1), con el fin de remover las proteínas presentes en la muestra. La mezcla resultante fue centrifugada a 3,600 rpm a -5 °C por 15 min. Se recuperó el sobrenadante y se le agregó 1 ml de solución de antrona (0.1 % disuelto en ácido sulfúrico H₂SO₄ al 76 %). Posteriormente, se incubó la muestra durante 4 min a 85-90 °C e inmediatamente después se enfrió a 4 °C. La absorbancia se leyó a 620 nm y la concentración de carbohidratos totales fue determinada realizando una curva tipo de 7 puntos utilizando dextrosa como estándar a partir de 5 mg/ml.

Determinación de proteína.

Para la determinación de proteínas solubles, se utilizó el método descrito por Bradford (1976), el cual es un ensayo de unión proteína-colorante basado en el cambio diferencial de color de un colorante en respuesta a varias concentraciones de proteína. Se trata de

un método de determinación de proteínas que implica la unión de Azul Brillante de Coomassie G-250 con las proteínas. Esta unión del colorante con las proteínas provoca un cambio en el máximo de absorción del colorante desde 465 a 595 nm. Por lo tanto, la técnica se basa en el hecho de que el Azul Brillante de Coomassie existe en dos formas con colores diferentes, rojo y azul. La forma roja se convierte en azul cuando se une el colorante a la proteína.

Para la realización de este método el homogenizado fue diluido a razón de 1:10 con hidróxido de sodio (NaOH 0.1 N), y luego incubado por 2 h. Posteriormente se agitó la muestra, se colocó 0.01 ml en un tubo de ensayo y se agregó 1 ml de reactivo de Bradford (SigmaTM). La absorbancia fue leída a 595 nm. Se utilizó como patrón, para la realización de la curva tipo, una solución de albúmina bovina disuelta en buffer, también llamada patrón de albumina de SigmaTM, con 5 puntos a partir de 2.5 mg/ml.

Determinación de lípidos totales y triglicéridos.

Para la determinación de lípidos totales se empleó el método de sulfofosfovainillina (Barnes y Blackstock, 1973) utilizando reactivo comercial y soluciones estándar (MerckTM). Para tal efecto se añadieron 0.025 ml del homogenizado en tubos de ensayo y se agregaron 0.25 ml de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla resultante se calentó en baño maría a 90 °C por 10 min e inmediatamente después fue enfriada en baño de hielo. Se colocaron 0.02 ml de la muestra en microplaca y se añadieron 0.2 ml de reactivo enzimático comercial. La absorbancia se registró en un lector de microplaca (Lab-systems, Uniskan II) a 560 nm y la determinación de la concentración de lípidos totales se realizó con una curva tipo con 8 puntos a partir de 10 mg/ml.

La concentración de triglicéridos fue determinada con un kit colorimétrico-enzimático (GOP-PAP, MerckTM). Para ello, los homogenizados de gónada, glándula digestiva y manto fueron centrifugados a 4000 rpm a 5 °C por 10 min, y se mezclaron 0.02 ml del sobrenadante de cada tejido con 0.2 ml de solución reactiva, sobre la microplaca. La absorbancia se leyó a 495 nm con el lector de microplaca, y se utilizó una curva tipo con 8 puntos a partir de 200 mg/dL.

6.4 Análisis energético.

Utilizando los datos proporcionados por los análisis bioquímicos, se realizó un análisis de la cantidad de energía por gramo de peso seco que aportan carbohidratos, proteínas lípidos y triglicéridos, a los diferentes tejidos relacionados con el proceso de gametogénesis. Para ello se utilizaron los siguientes coeficientes de conversión energética: carbohidratos = 17.2 kJ/g; proteínas = 20.1 kJ/g; lípidos = 35.3 kJ/g (Beukema y De Bruin, 1979; Brokordt y Guderley, 2004).

6.5 Análisis estadístico.

Se obtuvo la estadística descriptiva de las mediciones de los ovocitos, tanto de frecuencia como de talla, así como también de las mediciones de concentración de los diferentes metabolitos analizados en la gónada, el músculo, la glándula digestiva y el manto por muestreo, diferenciando entre machos, hembras y organismos indiferenciados sexualmente. Asimismo se realizaron pruebas de Kolmogorov-Smirnov para corroborar la normalidad de los datos antes mencionados, tanto los histológicos como los bioquímicos, así como para determinar el tipo de prueba estadística a utilizar (paramétrica o no paramétrica).

Una vez confirmada la normalidad de los datos, se realizó, para el caso de los datos histológicos, una prueba de análisis de varianza de una vía (ANOVA) para detectar diferencias estadísticamente significativas entre la talla de ovocitos con respecto al tiempo (factor T con cuatro variables o muestreos). Con los datos de los análisis bioquímicos se realizaron pruebas de ANOVA de una vía para detectar diferencias estadísticamente significativas entre la concentración bioquímica de los tejidos mencionados con un número de variables igual al número de promedios de concentración obtenidos para machos, hembras y organismos indiferenciados en cada uno de los cuatro muestreos, es decir, 12 variables en teoría. Finalmente, con los datos obtenidos del análisis energético, se realizaron pruebas de ANOVA de una vía para detectar diferencias significativas entre la cantidad de energía por gramo de tejido en organismos de ambos sexos e indiferenciados con respecto a los diferentes estadios gametogénicos. En caso de encontrar diferencias significativas se realizaron pruebas estadísticas *a posteriori* de Tukey para comparación de medias y detección de grupos homogéneos o heterogéneos.

Por otro lado, se realizaron análisis de correlación (Pearson) entre la talla de los ovocitos y las diferentes variables bioquímicas. Para todos los estadísticos, el nivel de significancia se fijó en $p < 0.05$ (Sokal y Rohlf, 1981). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa Statistica (Ver. 6.0) y para las pruebas de Tukey se utilizó el programa SPSS (Ver. 12.0).

7. Resultados.

7.1 Variaciones en la temperatura del agua.

En la Figura 1 se observan las variaciones en el promedio mensual de la temperatura del agua, en la granja submarina del CIBNOR, durante el período de estudio. De marzo a mayo de 2003 se presentó un aumento paulatino de la temperatura, alcanzando 23 °C en mayo, seguido de un decremento en el mes de junio de casi 3 °C en el promedio mensual. Durante julio del mismo año se presentó una variación importante en los valores de temperatura con un promedio de 24.1 °C y en los siguientes tres meses se registraron los valores más elevados del periodo de estudio (28 °C en agosto, 28.4 °C en septiembre y 28.3 °C en octubre). La temporada cálida se extendió hasta noviembre de 2003 (26.8 °C) y posteriormente la temperatura disminuyó gradualmente hasta el promedio mínimo registrado durante febrero de 2004 (19.5 °C), registrándose también valores relativamente bajos durante marzo (20.2 °C) y abril (21.4 °C) del mismo año.

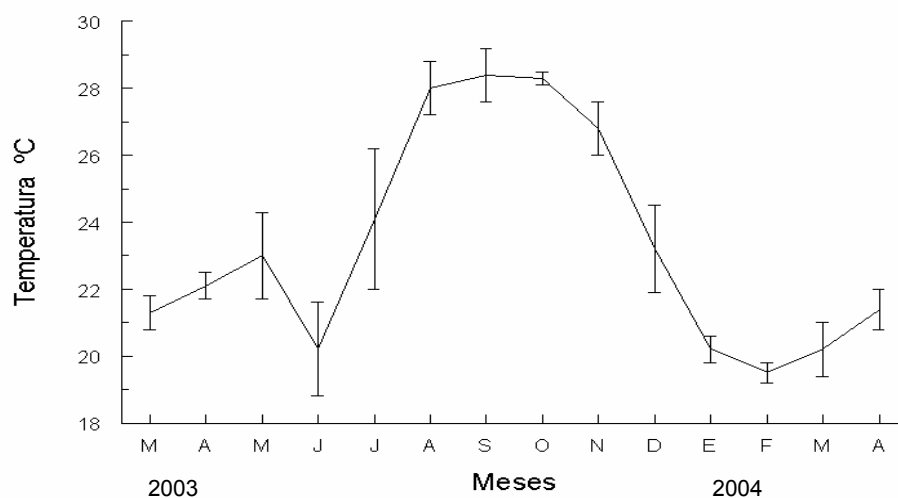


Figura 1. Variaciones en la temperatura del agua en El Merito, Bahía de la Paz, durante el periodo de estudio 2003-2004.

7.2 *Pteria sterna*.

7.2.1 Análisis histológicos.

7.2.1.1 Proporción de sexos.

La mayor parte de los organismos de esta especie muestreados resultaron ser machos y por cada uno de ellos se encontraron 0.43 hembras y 0.53 organismos indiferenciados sexualmente (Fig. 2). Cabe mencionar que, en esta especie, no se encontró evidencia de organismos hermafroditas o en proceso de cambio de sexo.

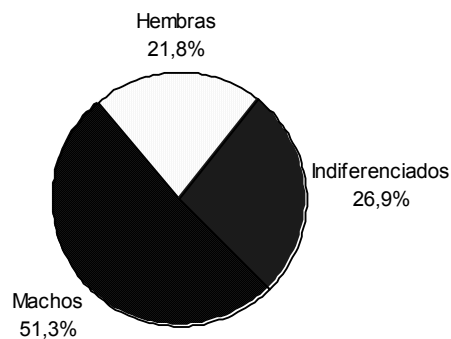


Figura 2. Proporción de sexos del total de organismos estudiados de la especie *Pteria sterna* en El Merito, Bahía de la Paz, durante el periodo de estudio 2003-2004.

7.2.1.2 Ciclo reproductivo.

En todos los muestreos se encontraron organismos en diferentes estadios gametogénicos (Fig. 3). En el mes de julio de 2003 predominaron los organismos en desarrollo (44.4 %), seguidos de los indiferenciados (33.3 %) y se observa una menor proporción de organismos en post-desove (16.7 %) y desove (5.6 %). Para octubre del mismo año únicamente se obtuvieron organismos indiferenciados (57.9 %) y en desarrollo (42.1 %). En el mes de enero de 2004 se encontraron organismos en todos los estadios

excepto indiferenciados, predominando los animales en desarrollo (61.9 %), seguidos de los maduros (23.8 %), y por último los animales en post-desove (9.6 %) y desove (4.8 %). Finalmente, en el mes de abril de 2004 el 55.0 % de los organismos se encontraban en desarrollo, el 20.0 % en etapa de indiferenciación, el 15.0 % en madurez y el 10.0 % en estadio de post-desove.

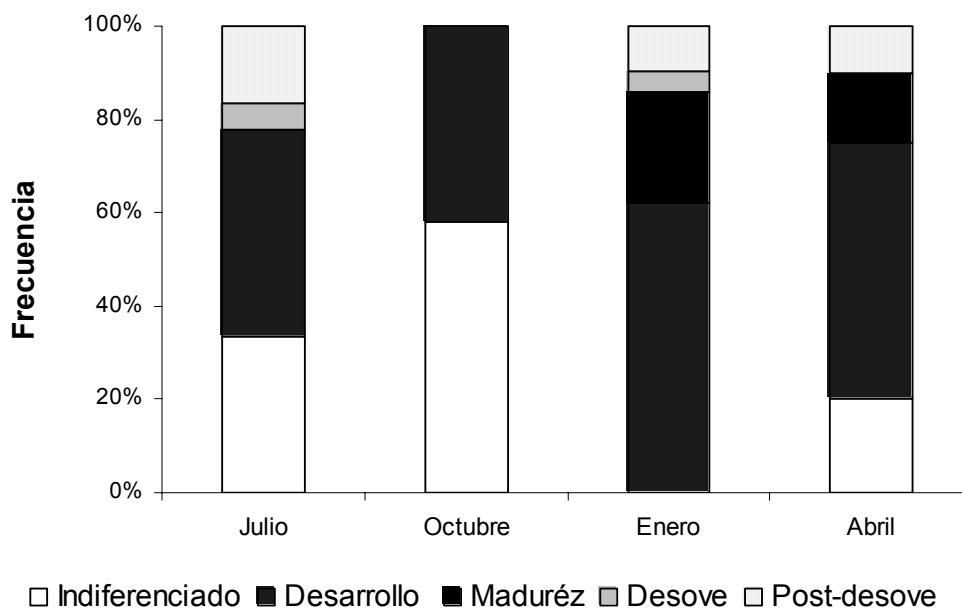


Figura 3. Ciclo reproductivo de *Pteria sterna*, en El Merito, Bahía de La Paz, a lo largo del ciclo 2003-2004.

7.2.1.3 Análisis de ovocitos.

La Figura 4 presenta las variaciones estacionales en la frecuencia de ocurrencia de las tres tallas de ovocitos durante la gametogénesis de *P. sterna*. En todas las estaciones se encontraron ovocitos de los tres tipos, sin embargo, la frecuencia de ocurrencia de los mismos es distinta de acuerdo al grado de desarrollo de las hembras estudiadas. Durante julio de 2003 (con predominancia de estadio de indiferenciación y desarrollo) los ovocitos vitelogénicos representaron el 59.0 % del total de la muestra, los previtelogénicos el 24.3 % y los posvitelogénicos el 16.7 %. Ello indica un desarrollo

gametogénico intermedio con gran cantidad de ovocitos en vitelogenesis pero pocos maduros. Para el siguiente muestreo en octubre de 2003 (con predominancia de la etapa de indiferenciación y desarrollo), se presentó un decremento en la frecuencia de ovocitos vitelogénicos (39.8 %), con un aumento considerable de ovocitos previtelogénicos (55.6 %), lo cual es reflejo de un desarrollo incipiente, resultando nuevamente los posvitelogénicos los menos frecuentes (4.5 %). Las frecuencias de los tipos de ovocitos en enero de 2004 corroboran la presencia de hembras en desarrollo y madurez, ya que se encuentra una alta incidencia de ovocitos vitelogénicos (47.5 %) y posvitelogénicos (38.3 %), siendo los previtelogénicos los más escasos (14.2%). Finalmente, en abril de 2004, los ovocitos posvitelogénicos predominaron en cantidad (61.3 %) siendo los previtelogénicos los menos frecuentes (4.7 %), reflejándose nuevamente la presencia de hembras en estadios avanzados de desarrollo y en madurez.

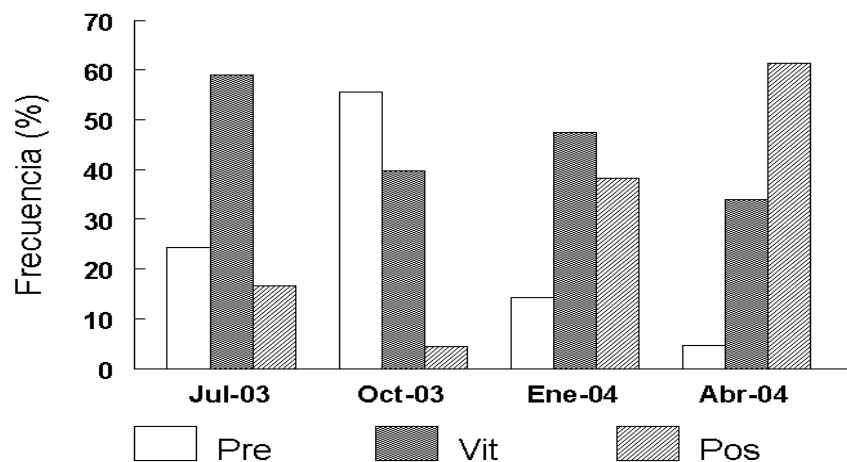


Figura 4. Variaciones estaciones en la frecuencia de ocurrencia de los tres tipos de ovocitos de *Pteria sterna*. Pre = Previtelogénicos; Vit = Vitelogénicos; Pos = Posvitelogénicos

En la Figura 5 se muestran las variaciones temporales en la talla de los ovocitos, expresada como diámetro estandarizado (DE). Este análisis concuerda y corrobora lo encontrado en el análisis de frecuencia de ocurrencia de los tres tipos de ovocitos, con hembras en desarrollo durante julio de 2003 (DE = 25.5 μm), hembras también en desarrollo pero con menores tallas de ovocitos durante octubre del mismo año (DE = 21.1 μm), y con hembras en un desarrollo cercano a la madurez, y en plena madurez, durante enero (DE = 28.6 μm) y abril de 2004 (DE = 33.1 μm). Se encontraron diferencias significativas en la talla de los ovocitos con respecto al tiempo ($F = 178.01$; $p < 0.05$). La prueba de Tukey reflejó el promedio del diámetro de los ovocitos en todos los muestreos son significativamente diferentes entre sí, con las mayores tallas obtenidas en abril de 2004 y las menores en octubre de 2003.

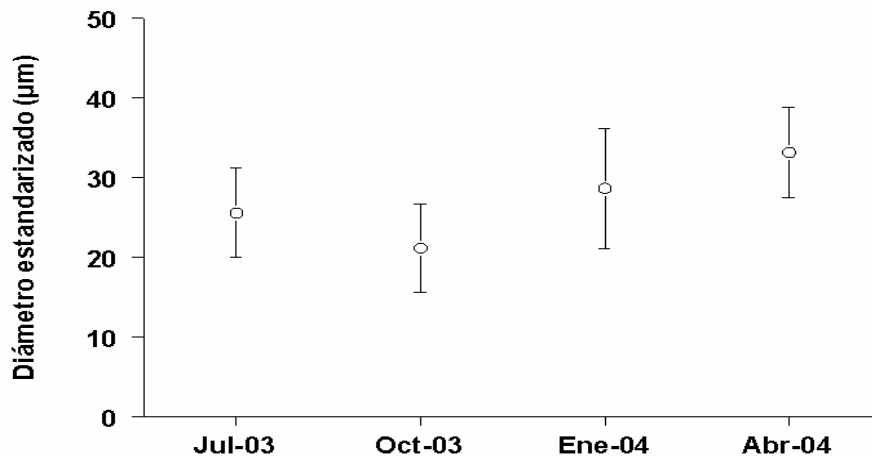


Figura 5. Variaciones estacionales en el diámetro estandarizado de los ovocitos de *Pteria sterna* durante el ciclo 2003-2004. Promedio más desviación estándar.

7.2.2 Análisis bioquímico

7.2.2.1 Componentes bioquímicos de la gónada.

Las hembras muestreadas en julio de 2003 (verano) presentaron la mayor concentración de carbohidratos en dicho tejido (13.6 mg/g) y la menor concentración se presentó en los organismos indiferenciados de octubre (5.4 mg/g) (Fig. 6). No hubo diferencias significativas en la concentración de carbohidratos en la gónada entre machos y hembras y únicamente los organismos indiferenciados muestreados en octubre de 2003 presentaron diferencias estadísticas con los machos y hembras muestreados en julio del mismo año, y los machos de abril del año siguiente ($F = 3.15$; $p < 0.05$). No se presentó una correlación entre la talla de los ovocitos y la concentración de carbohidratos en la gónada de las hembras ($r = -0.51$; $p > 0.05$).

Se detectaron diferencias significativas en la concentración de proteína en la gónada de las distintas muestras ($F = 13.01$; $p = 0.05$). La mayor concentración se presentó en las hembras de los meses de enero (111.6 mg/g) y abril (120.2 mg/g) de 2004, sin diferencias significativas con la de los machos de los mismos meses (94.6 y 100.9 mg/g respectivamente) (Fig. 6). Los organismos indiferenciados resultaron tener la concentración significativamente más baja de proteína en este tejido (32.7- 47.3 mg/g) y no se detectaron diferencias significativas entre ellos a través del tiempo. Se obtuvo una correlación positiva significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de proteínas en la gónada de las hembras ($r = 0.66$; $p < 0.05$).

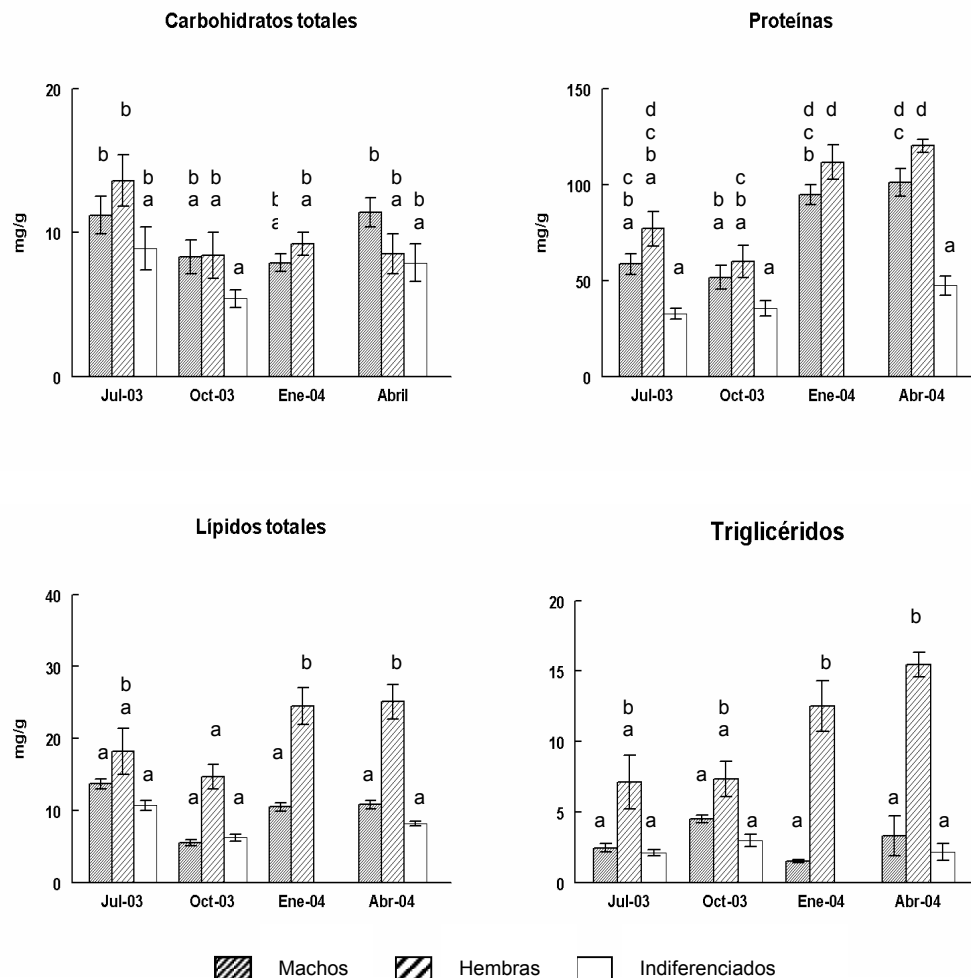


Figura 6. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la gónada de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.

En la misma Figura 6, se observa que la mayor concentración de lípidos se presentó en la gónada de las hembras en enero (24.5 mg/g) y abril de 2004 (25.1 mg/g), seguidas de la que presentaron las hembras en julio (18.2 mg/g) y octubre de 2003 (14.7 mg/g). Por su parte, la concentración de lípidos totales en la gónada de los organismos machos e indiferenciados presentó valores entre 5.5 y 13.6 mg/g sin diferencias entre sí, pero significativamente menores que el valor obtenido de las hembras en los dos muestreos

de 2004 ($F = 9.18$; $p < 0.05$). Se presentó una correlación positiva significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de lípidos en la gónada ($r = 0.96$; $p < 0.05$).

En lo que respecta a la concentración de triglicéridos en la gónada de la concha nácar, se observa un patrón similar a lo encontrado para lípidos. Los mayores valores se presentaron en las hembras de enero (12.5 mg/g) y abril de 2004 (15.5 mg/g), que fueron significativamente superiores a los valores de machos e indiferenciados de todos los muestreos, que van de 1.5 a 4.5 mg/g ($F = 7.21$; $p = 0.05$) (Fig. 6). Se presentó una correlación positiva significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de triglicéridos en la gónada ($r = 0.78$; $p < 0.05$).

7.2.2.2 Componentes bioquímicos del músculo.

Durante el julio y octubre de 2003, la concentración de carbohidratos en este tejido se mantuvo con valores entre 6.0 y 17.2 mg/g., mientras que en el enero y abril del año siguiente se presentó un aumento significativo en la concentración de este metabolito, indistintamente del sexo, con valores promedio que van de 25.4 mg/g a 31.2 mg/g. ($F = 3.98$; $p < 0.05$) (Fig. 7). Se observó que las variaciones ocurren entre los meses de muestreo, pero no hay diferencias entre los sexos dentro de cada muestreo. No se obtuvo una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de carbohidratos en el músculo de las hembras ($r = 0.12$; $p > 0.05$).

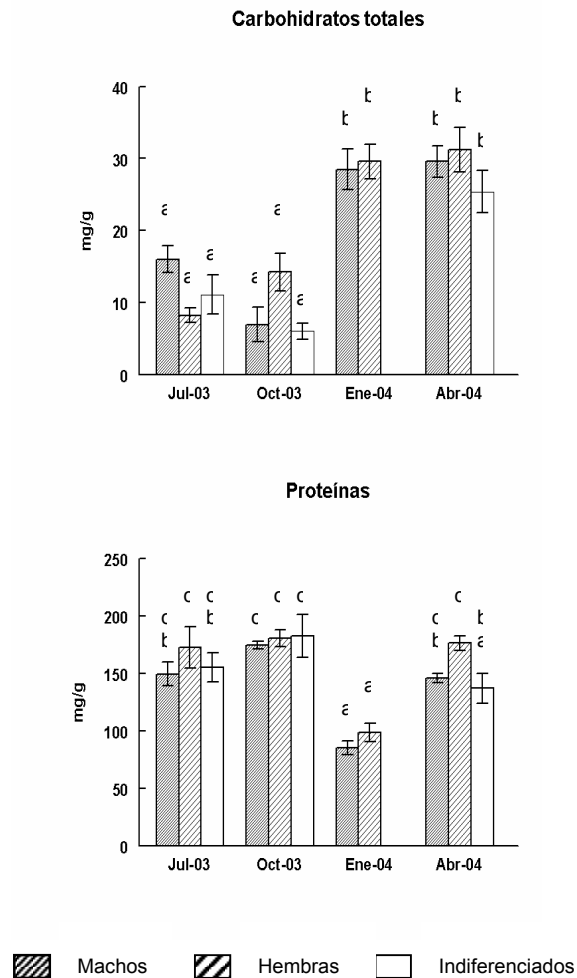


Figura 7. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales y proteínas en el músculo aductor de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.

La concentración de proteína en el músculo de *P. sterna* presentó valores entre 149.5 y 182.8 mg/g durante julio y el octubre de 2003, seguido en enero de 2004 de un decremento en la concentración de este metabolito en el músculo de ambos sexos (85.3 a 98.4 mg/g), y culminando el ciclo anual en primavera de 2004 con un incremento, alcanzando los organismos indiferenciados 136.9 mg/g, los machos 145.7 mg/g y las hembras 176.2 mg/g (Fig. 7). Las principales diferencias significativas se dieron entre

los valores de machos y hembras de enero con respecto al resto de las muestras ($F = 10.1$; $p < 0.05$). Se presentó una correlación negativa significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de proteína en el músculo aductor ($r = -0.56$; $p < 0.05$).

7.2.2.3 Componentes bioquímicos de la glándula digestiva.

En la Figura 8 se observa que la concentración de carbohidratos en la glándula digestiva presenta un gradual decremento desde el julio de 2003 (24.8 mg/g en promedio de machos, hembras e indiferenciados) hasta enero del siguiente año (17.5 mg/g machos y 14.0 mg/g hembras), mientras que en la primavera de 2004 se observa un aumento importante y significativo en la concentración de carbohidratos en este tejido, alcanzando un promedio de 32.6 mg/g ($F = 15.6$; $p < 0.001$) (Fig. 8). No hubo diferencias entre los sexos dentro de cada mes de muestreo. No se obtuvo una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de carbohidratos en la glándula digestiva de las hembras ($r = 0.58$; $p > 0.05$).

En cuanto a la concentración de proteínas en la glándula digestiva de esta especie, en el primer mes de muestreo, los machos presentaron una concentración de 197.2 mg/g, las hembras de 163.5 mg/g y los organismos sin diferenciación sexual 173.8 mg/g, seguido de valores similares para el mes de octubre de 2003 con un promedio de 160.4 mg/g. Para el mes de enero de 2004 ocurrió un decremento significativo en los machos (89.3 mg/g) y hembras (86.9 mg/g), y finalmente en abril de 2004 se alcanzó un valor promedio de 148.3 mg/g ($F = 30.7$; $p < 0.05$) (Fig. 8). Sin embargo, estas variaciones no se reflejaron en diferencias entre los sexos dentro de cada muestreo. En este caso tampoco se presentó una correlación significativa entre la talla de los ovocitos

y la concentración de proteínas en la glándula digestiva de las hembras ($r = 0.23$; $p > 0.05$).

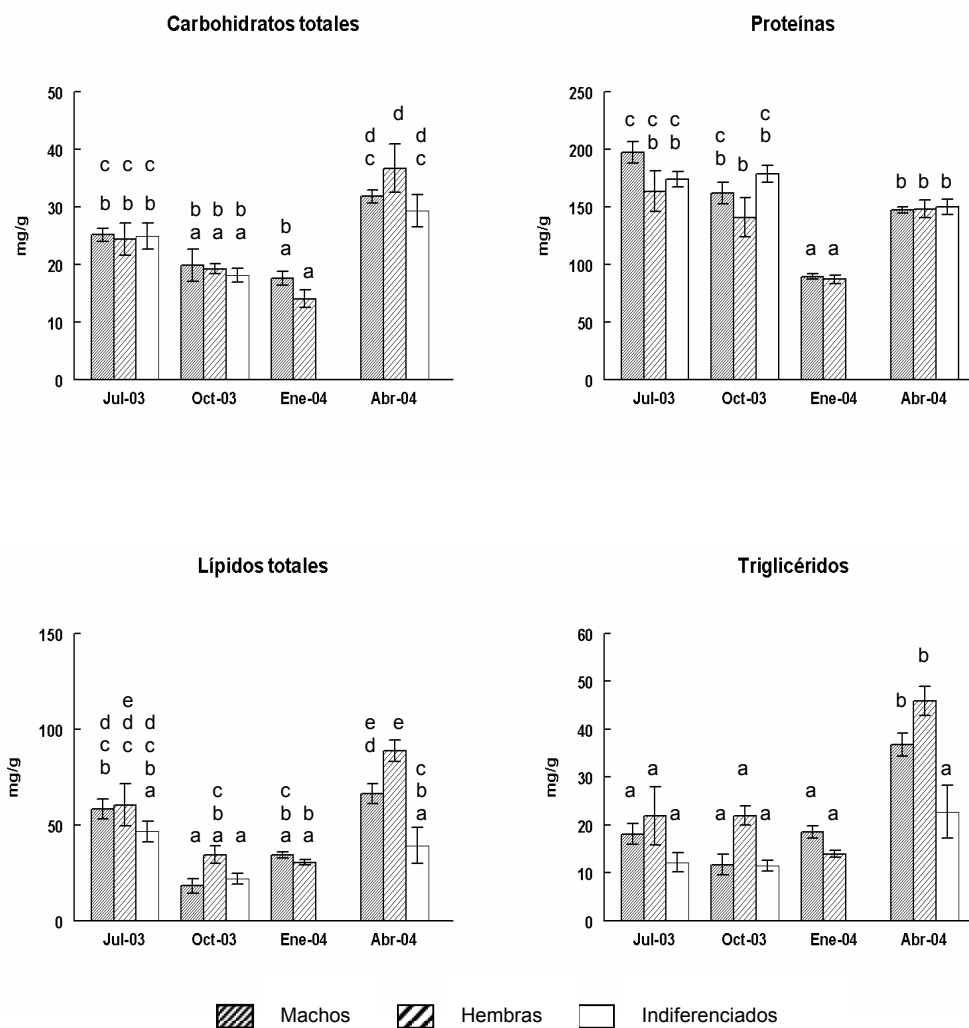


Figura 8. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la glándula digestiva de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.

Los valores más bajos en la concentración de lípidos totales en la glándula digestiva se presentaron durante el octubre de 2003 y enero siguiente (de 18.1 a 34.4 mg/g), mientras que los valores significativamente mayores ocurrieron en machos (66.4 mg/g) y hembras (88.7 mg/g) de abril de 2004 ($F = 12.6$; $p < 0.05$) (Fig. 9). Entre los sexos

únicamente se observan diferencias estadísticas en el último mes de muestreo, donde la concentración en machos y hembras es significativamente mayor que la obtenida en organismos indiferenciados. No se obtuvo una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de lípidos en la glándula digestiva de las hembras ($r = 0.63$; $p > 0.05$).

De igual forma, para los triglicéridos de la glándula digestiva se encontraron las concentraciones más elevadas en el mes de abril de 2004 en organismos machos (36.8 mg/g) y hembras (45.9 mg/g), valores significativamente diferentes del valor de concentración en indiferenciados del mismo mes (22.7 mg/g) y de los valores de concentración en los otros tres meses, obteniéndose la menor concentración en machos (11.7 mg/g) e indiferenciados (11.4 mg/g) de octubre de 2003 ($F = 14.4$; $p < 0.05$) (Fig. 9). No se presentó significancia en la correlación entre la talla de los ovocitos y la concentración de triglicéridos en la glándula digestiva de las hembras ($r = 0.22$; $p > 0.05$).

7.2.2.4 Componentes bioquímicos del manto.

Las concentraciones más bajas de carbohidratos totales para este tejido ocurrieron en los muestreos de julio de 2003 y enero del año siguiente, con valores entre 1.3 y 3.6 mg/g, sin diferencias significativas entre éstos. En el muestreo de otoño las hembras presentaron una mayor concentración (10.8 mg/g) que machos e indiferenciados (5.4 y 6.6 mg/g respectivamente), sin embargo estas variaciones no se reflejaron en diferencias estadísticas. La mayor concentración significativamente más elevada de este metabolito en el tejido mencionado se dio en machos y hembras durante el mes de abril (12.0 y 12.5 mg/g) ($F = 14.6$; $p < 0.05$) (Fig. 9). No se encontró una correlación significativa

entre la talla de los ovocitos y la concentración de carbohidratos en el manto de las hembras ($r = 0.33$; $p > 0.05$).

Durante los muestreos de julio y octubre de 2003, y enero de 2004, la concentración de proteínas en el manto se mantuvo relativamente constante de 46.5 a 61.9 mg/g, con un aumento significativo en la concentración durante la abril del último año para machos (71.5 mg/g) y hembras (82.5 mg/g), más no así para indiferenciados (60.3 mg/g) ($F = 2.3$; $p < 0.05$) (Fig. 9). La talla de los ovocitos no presentó una correlación con la concentración de carbohidratos en el manto de las hembras ($r = 0.47$; $p > 0.05$).

El contenido de lípidos totales en el manto de *P. sterna* varió de 2.9 a 6.1 mg/g, valores correspondientes a los machos muestreados en el octubre y julio de 2003, respectivamente. Dichos valores arrojaron diferencias significativas ($F = 3.1$; $p < 0.05$), sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los sexos dentro de cada mes de muestreo. De igual manera, la concentración de triglicéridos en este tejido, que se mantuvo en niveles bajos desde 0.9 hasta 1.9 mg/g, presentó diferencias significativas entre las muestras ($F = 5.5$; $p = 0.05$) (Fig. 9). No se encontró una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de lípidos ($r = -0.08$; $p > 0.05$) y triglicéridos ($r = -0.1$; $p > 0.05$) en el manto de las hembras

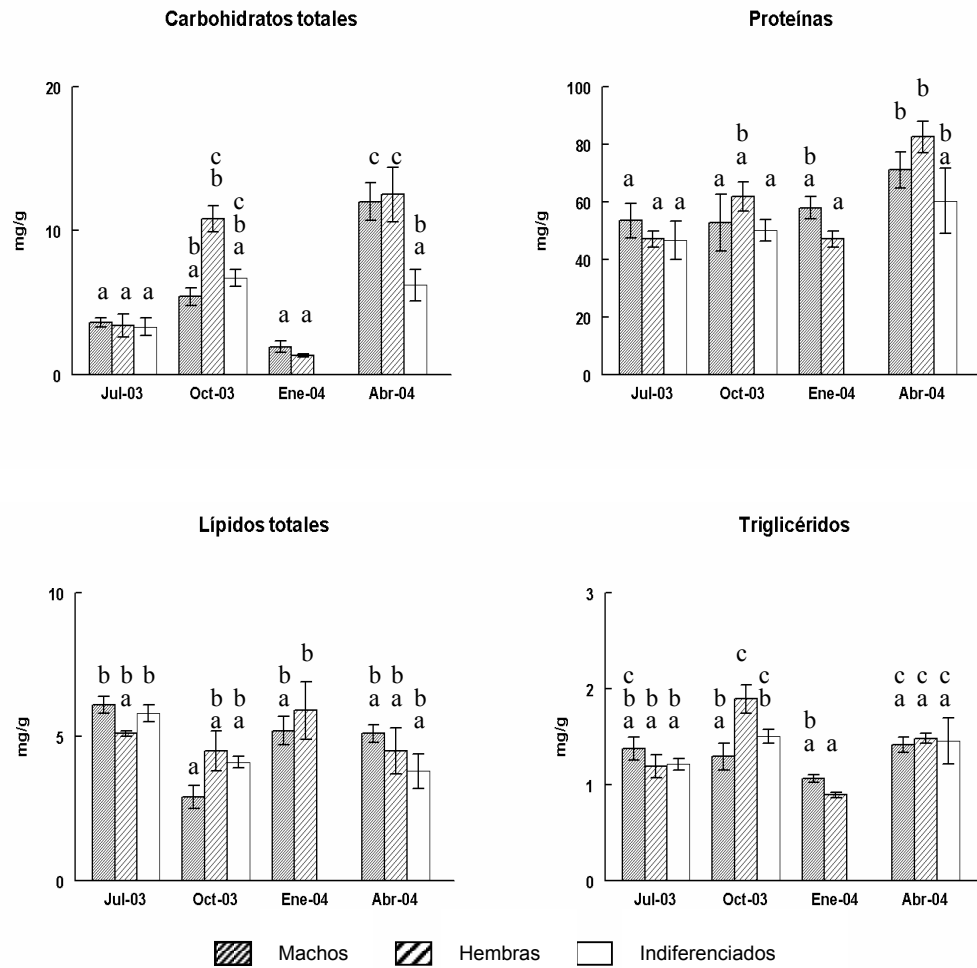


Figura 9. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en el manto de *Pteria sterna* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Figura 14. Variaciones estacionales en el diámetro teórico y el eje mayor de los ovocitos de *Pinctada mazatlanica* durante el ciclo 2003-2004. Promedio más desviación estándar.

7.2.3 Análisis energético.

En la Tabla I se presenta un análisis de las variaciones en el contenido energético de los diferentes combustibles metabólicos de los tejidos participantes en la gametogénesis, con respecto al estadio gametogénico de los organismos. Para el caso de la gónada se observa que los carbohidratos no presentan variaciones significativas en su contenido energético con respecto al estadio gametogénico, ni tampoco con respecto al sexo ($F = 1.9$; $p > 0.05$), presentando valores de 0.5 a 0.9 kJ/g. En lo que se refiere a la cantidad de energía correspondiente a las proteínas, se observa que, en ambos sexos, de la etapa de indiferenciación a la etapa de madurez se da un incremento paulatino, el cual se vio reflejado en diferencias altamente significativas ($F = 18.4$; $p < 0.05$). Los valores proteicos obtenidos durante las etapas de desove y postdesove resultaron también significativamente menores que los obtenidos en el estadio de madurez. El contenido energético aportado por los lípidos presentó un patrón similar que el observado para proteínas, pero únicamente en las hembras, donde se obtuvieron valores significativamente mayores en desarrollo que en indiferenciación y postdesove, y a su vez valores mayores en madurez que en desarrollo ($F = 17.1$; $p < 0.05$). En la gónada de los machos no se detectaron diferencias significativas en los valores de energía lipídica con respecto al estadio gametogénico.

Por otra parte, los carbohidratos del músculo de esta especie aportaron un contenido energético relativamente bajo a la gametogénesis y únicamente se detectaron diferencias significativas entre los valores de aquellos organismos sin diferenciación sexual (0.8 kJ/g) y el de las hembras en desarrollo (1.3 kJ/g) con respecto a los machos maduros (3.1 kJ/g) ($F = 4.6$; $p > 0.001$). En este tejido, la mayor energía proteica se presentó en

los organismos indiferenciados, disminuyendo ésta de manera significativa al avanzar el desarrollo gametogénico ($F = 4.1$; $p = 0.05$) (Tabla I).

En la glándula digestiva no se observa una relación clara entre las variaciones en el contenido energético de carbohidratos y el ciclo reproductivo, presentándose variaciones significativas de poca consideración ($F = 2.5$; $p < 0.05$). Las proteínas, por su parte, presentaron valores energéticos en este tejido que disminuyeron gradualmente del estadio de indiferenciación al de madurez en ambos sexos, pero este decremento únicamente se vio reflejado de manera significativa en las hembras maduras ($F = 2.9 < 0.05$). Contrariamente la energía lipídica en la glándula digestiva aumentó gradualmente de organismos indiferenciados a organismos maduros, esta vez con diferencias significativas tanto en machos como en hembras ($F = 2.8$; $p < 0.05$) (Tabla I).

Finalmente, en el manto de esta especie no se presentaron variaciones significativas en los valores energéticos de ninguno de los componentes bioquímicos con respecto al estadio gametogénico de los organismos, ni con respecto al sexo de los mismos.

Tabla I. Variaciones en el contenido energético aportado por cada componente bioquímico en los diferentes tejidos de *P. sterna* durante los diferentes estadios gametogénicos. (Kj por gramo de peso seco)

E.G.	Músculo				Gónada						G. Digestiva						Manto					
	Cho Kj · g ⁻¹		Pro Kj · g ⁻¹		Cho Kj · g ⁻¹		Pro Kj · g ⁻¹		Lip Kj · g ⁻¹		Cho Kj · g ⁻¹		Pro Kj · g ⁻¹		Lip Kj · g ⁻¹		Cho Kj · g ⁻¹		Pro Kj · g ⁻¹		Lip Kj · g ⁻¹	
IND	0.8 ^a		15.8 ^b		0.7 ^a		3.5 ^a		1.3 ^a		1.4 ^{ab}		12.3 ^b		4.0 ^a		0.6 ^a		6.8 ^a		1.1 ^a	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
DES	1.6 ^{ab}	1.3 ^a	11.1 ^a	12.0 ^{ab}	0.8 ^a	0.8 ^a	8.5 ^{bc}	7.0 ^b	1.9 ^a	3.3 ^b	1.4 ^{ab}	1.1 ^a	9.9 ^{ab}	9.7 ^{ab}	5.7 ^{ab}	4.8 ^{ab}	0.6 ^a	0.7 ^a	8.1 ^a	7.7 ^a	1.2 ^a	1.2 ^a
MAD	3.1 ^b	1.9 ^{ab}	10.2 ^a	11.0 ^a	0.8 ^a	0.9 ^a	10.7 ^{cd}	11.8 ^d	1.9 ^a	4.7 ^c	1.7 ^{ab}	1.5 ^{ab}	9.3 ^{ab}	8.0 ^a	6.8 ^b	6.7 ^b	1.0 ^a	0.6 ^a	9.6 ^a	7.8 ^a	1.2 ^a	1.3 ^a
DSV	2.0 ^{ab}		8.9 ^a		0.7 ^a		5.3 ^{ab}		2.1 ^a		1.4 ^{ab}		11.3 ^{ab}		6.2 ^{ab}		0.3 ^a		5.6 ^a		1.2 ^a	
PDS	1.8 ^{ab}	1.6 ^{ab}	13.7 ^{ab}	10.7 ^a	0.9 ^a	0.5 ^a	6.1 ^{ab}	5.5 ^{ab}	1.8 ^a	1.7 ^a	2.0 ^b	1.0 ^a	10.3 ^{ab}	8.4 ^{ab}	8.7 ^b	4.2 ^a	1.2 ^a	0.2 ^a	9.4 ^a	5.3 ^a	1.3 ^a	1.2 ^a

E.G. = Estadio gametogénico; Letras distintas denotan diferencias significativas por columna de componente bioquímico ($\alpha = 0.05$).

7.3 *Pinctada mazatlanica*.

7.3.1 Análisis histológicos.

7.3.1.1 Proporción de sexos.

En esta especie, también la mayor parte de los organismos muestreados resultaron ser machos, y por cada uno de ellos se encontraron 0.35 hembras y 0.31 organismos sexualmente indiferenciados (Fig. 10).

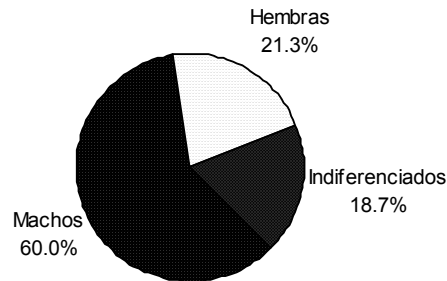


Figura 10. Proporción de sexos del total de organismos estudiados de la especie *Pinctada mazatlanica* en El Merito, Bahía de la Paz, durante el periodo de estudio 2003-2004.

Del total de la población analizada para esta especie, solo se encontró un organismo en proceso de cambio de sexo (hermafroditismo protándrico). En la Figura 11, se observa que dentro de un mismo acino se encuentran tanto ovocitos en desarrollo (OD) como espermatozoides residuales (ER). Estos últimos pierden la cola durante el proceso de degeneración y se observan dispersos dentro del folículo, sin el orden característico de los gametos masculinos en desarrollo; mientras que los ovocitos se encuentran fijados a la pared del folículo.

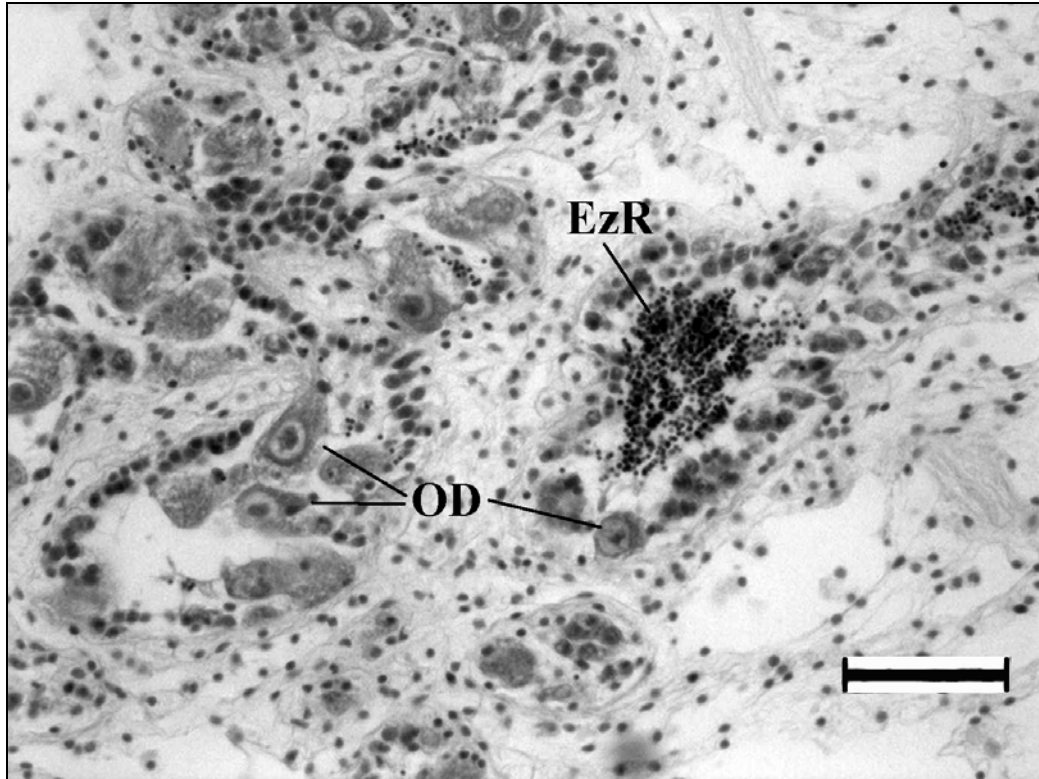


Figura 11. Corte histológico de un organismo de *P. mazatlanica* en proceso de cambio de sexo de macho a hembra; OD: ovocitos en desarrollo; EzR: espermatozoides residuales. Barra = 50 μ m.

7.3.1.2 Ciclo reproductivo.

Durante los meses de mayo de 2003 y agosto del mismo año se registró gametogénesis en esta especie, presentando la población muestreada el 56.3 % de organismos en estadio de desarrollo durante el primero de estos meses y 94.4 % durante el segundo. En mayo se registró también incidencia de organismos maduros (43.7 %), mientras que en agosto solamente el 5.6 % se encontraba en dicho estadio. En el mes de noviembre de 2003 predominaron los organismos indiferenciados (45 %), seguidos de las ostras en post-desove (40 %) y los organismos en desove parcial (15 %). Finalmente en febrero de 2004 el 50.0 % de la población presentó gametogénesis, el 20.0 % post-desove y el restante 30 % correspondió a organismos indiferenciados (Fig. 12).

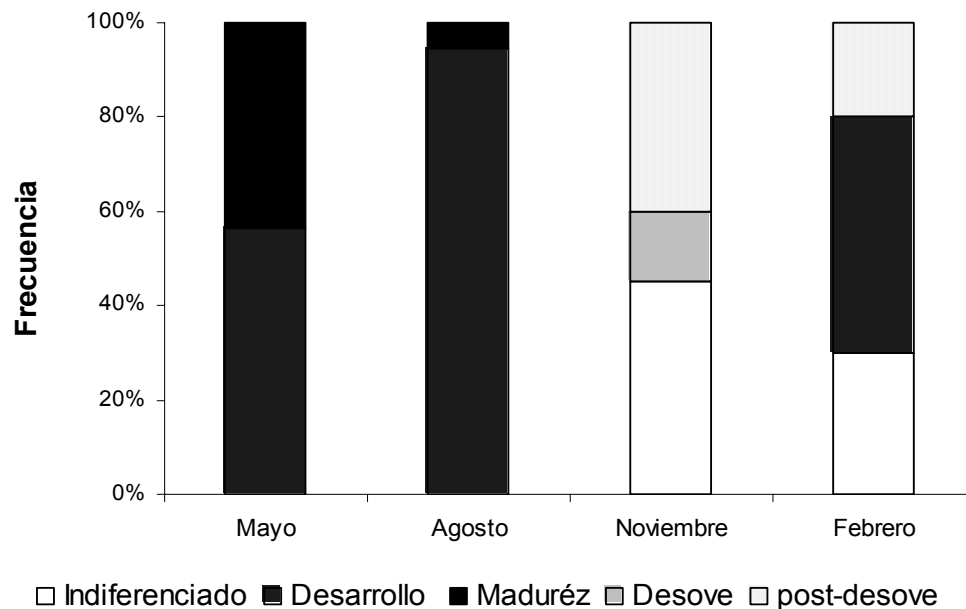


Figura 12. Ciclo reproductivo de *Pinctada mazatlanica*, en El Merito, Bahía de La Paz, a lo largo del ciclo 2003-2004.

7.3.1.3 Análisis de ovocitos.

La Figura 13 presenta las variaciones estacionales en la frecuencia de ocurrencia de los diferentes tipos de ovocitos en las hembras que presentaron gametogénesis en el periodo de estudio. Durante la mayo de 2003 hubo una presencia importante de organismos maduros, lo cual se ve reflejado en una elevada frecuencia de ovocitos posvitelogénicos (77.9 %), una menor incidencia de vitelogénicos (20.0 %) y una escasez de ovocitos previtelogénicos (2.1 %). En agosto del mismo año, cuando casi la totalidad de la población muestreada se encontraba en estadio de desarrollo, los ovocitos vitelogénicos resultaron ser la mayoría (55.2 %), seguidos de los previtelogénicos (30.6 %), siendo los posvitelogénicos los menos frecuentes (14.2 %). Durante noviembre el 85 % de la población se encontraba en estadio de posdesove o sin diferenciación sexual, y desafortunadamente no se colectaron hembras en este muestreo. Finalmente, en febrero

de 2004 hubo predominancia de ovocitos previtelogénicos (44.0 %) sobre posvitelogénicos (34.8 %) y vitelogénicos (21.2 %).

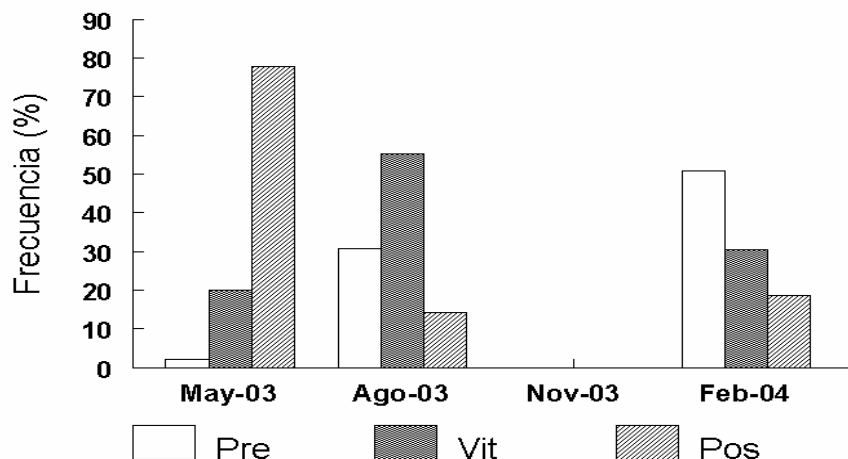


Figura 13. Variación temporal en la frecuencia de los tres tipos de ovocitos de *Pinctada mazatlanica*. Pre = Previtelogénicos; Vit = Vitelogénicos; Pos = Posvitelogénicos.

En la Figura 14 se muestran las variaciones temporales en la talla de los ovocitos, expresada como diámetro estandarizado (DE), y en ella se observa que los mayores valores de se presentaron durante el muestreo de mayo de 2003 (DE = 35.8 μm). En agosto del mismo año los ovocitos tuvieron un DE de 24.1 μm , y finalmente en febrero de 2004 se obtuvo un DE de 21.9 μm . Las tallas de los ovocitos variaron significativamente con respecto a las temporadas de muestreo ($F = 506.4$; $p = 0.05$). Las pruebas *a posteriori* arrojaron que las tallas de los ovocitos son significativamente distintas entre todas las temporadas de muestreo, presentándose en mayo de 2003 el mayor valor.

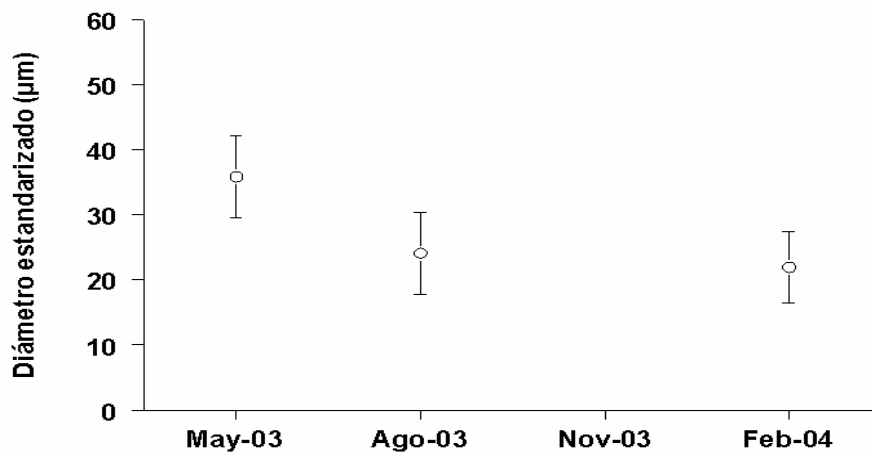


Figura 14. Variaciones estacionales en el diámetro estandarizado de los ovocitos de *Pinctada mazatlanica* durante el ciclo 2003-2004. Promedio más desviación estándar.

7.3.2 Análisis bioquímicos.

7.3.2.1 Componentes bioquímicos de la gónada.

La Figura 15 presenta las variaciones en la concentración de carbohidratos en el tejido gonadal de esta especie. Se puede observar que dicha concentración se mantiene alrededor de los 10 mg/g durante los muestreos de mayo y agosto de 2003, presentándose una disminución para el mes de noviembre en organismos machos e indiferenciados con un promedio de 6 mg/g. Posteriormente, durante febrero de 2004 (invierno) se observa un aumento en la concentración de este metabolito, tanto en machos (9.5 mg/g) como en hembras (13.5 mg/g) e indiferenciados (8.3 mg/g). La concentración de carbohidratos varió de manera significativa entre los grupos muestrales ($F = 5.4$; $p < 0.05$). Las pruebas de Tukey arrojaron diferencias significativas entre la concentración de carbohidratos obtenida en ostras de ambos sexos de

noviembre, con respecto a la encontrada en organismos de agosto y en las hembras de febrero, éstas últimas, a su vez, con una concentración estadísticamente distinta de la de indiferenciados del mismo mes. No se obtuvo significancia al correlacionar la talla de los ovocitos con la concentración de carbohidratos en la gónada de las hembras ($r = -0.29$; $p > 0.05$).

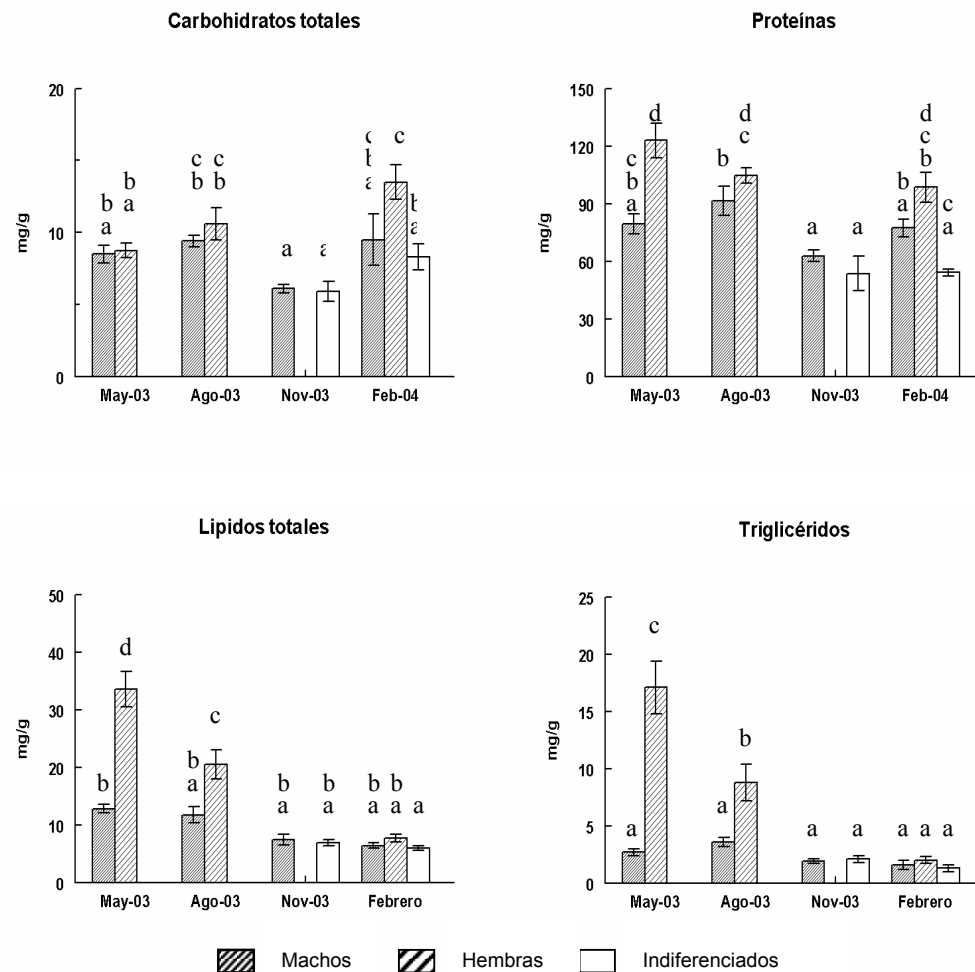


Figura 15. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la gónada de *Pinctada mazatlanica* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.

Por otro lado, las variaciones en la concentración de proteína se vieron reflejadas en diferencias altamente significativas entre los distintos grupos ($F = 12.7$; $p < 0.001$). La concentración más elevada la presentaron las hembras en mayo (123.0 mg/g) y agosto de 2003 (104.7 mg/g), y en febrero de 2004 (98.6 mg/g), valores significativamente mayores de los obtenidos para machos en mayo (79.4 mg/g) y noviembre de 2003 (62,7 mg/g), y en febrero de 2004 (77.3 mg/g), y para todos los indiferenciados (53,8 mg/g en promedio). La concentración en machos durante mayo y agosto también resultó distinta de la de organismos indiferenciados (Fig.15). Se obtuvo una correlación positiva entre la talla de los ovocitos y la concentración de proteína en la gónada de las hembras ($r = 0.52$; $p < 0.05$).

En las hembras del muestreo de mayo de 2003 se presentó la concentración más elevada de lípidos totales en la gónada (33.6 mg/g), seguido de las hembras de agosto del mismo año (20.5 mg/g), mientras que la gónada de los machos de estos dos primeros muestreos presentaron una concentración lipídica promedio de 12.2 mg/g sin diferencias entre éstos. Del muestreo de noviembre de 2003 al de enero del año siguiente, el contenido de lípidos por gramo de tejido gonadal se mantuvo relativamente constante entre los sexos, con un valor promedio de 6.9 mg/g (Fig. 15). Se detectaron diferencias significativas en la composición de este combustible entre los grupos muestrales ($F = 31.0$; $p < 0.05$). La correlación entre la talla de los ovocitos y la concentración de lípidos en la gónada de las hembras resultó ser positiva y significativa ($r = 0.66$; $p < 0.05$).

Los triglicéridos siguieron una tendencia similar a la observada para lípidos; ya que las concentraciones de este metabolito en la gónada de las hembras de mayo (17.1 mg/g) y agosto de 2003 (8.8 mg/g) resultaron ser las más elevadas, mientras que para el resto de los muestreos dicha concentración presentó en conjunto valores promedio de

2.15 mg/g ($F = 29.1$; $p < 0.001$) (Fig. 15). Igual que para lípidos, la concentración de triglicéridos en la gónada de las hembras resultó tener una correlación positiva significativa con la talla de los ovocitos ($r = 0.56$; $p < 0.05$).

7.3.2.2 Componentes bioquímicos del músculo.

El músculo de la madreperla presentó la mayor concentración de carbohidratos totales en las hembras durante el muestreo de mayo de 2003 con 80.6 mg/g, mientras que la menor concentración se presentó en los machos e indiferenciados del muestreo de noviembre del mismo año con 58.3 y 60.1 mg/g respectivamente, quedando todos los demás valores de concentración de carbohidratos para este tejido dentro de ese intervalo (Fig. 16). Se detectó la existencia de diferencias significativas en el contenido de hidratos de carbono en este tejido entre las distintas muestras ($F = 2.7$; $p < 0.05$). Las pruebas de Tukey revelaron que únicamente existe diferencia significativa entre la concentración de las hembras de mayo y la de los machos e indiferenciados de noviembre. No se obtuvo una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de carbohidratos en el músculo de las hembras ($r = 0.03$; $p > 0.05$).

Durante los dos primeros muestreos (mayo y agosto de 2003), la concentración de proteína en el músculo se mantuvo alrededor de un valor promedio de 155.9 mg/g, presentándose un aumento en la concentración de machos (182.0 mg/g) e indiferenciados (167.4 mg/g) en el siguiente muestreo, es decir en el noviembre, seguido de otro incremento en invierno de hasta 223.6 mg/g para las hembras (Fig. 16).

Dichas variaciones en el contenido proteico del músculo se reflejaron en diferencias significativas entre las hembras de febrero de 2004 que presentaron la mayor concentración (223.6 mg/g) y los organismos de ambos sexos de mayo (155.9 mg/g), y

agosto de 2003 (155.8 mg/g) ($F = 3.6$; $p < 0.05$). La talla de los ovocitos no presentó una correlación significativa con la concentración de proteínas en la gónada de las hembras ($r = -0.37$; $p > 0.05$)

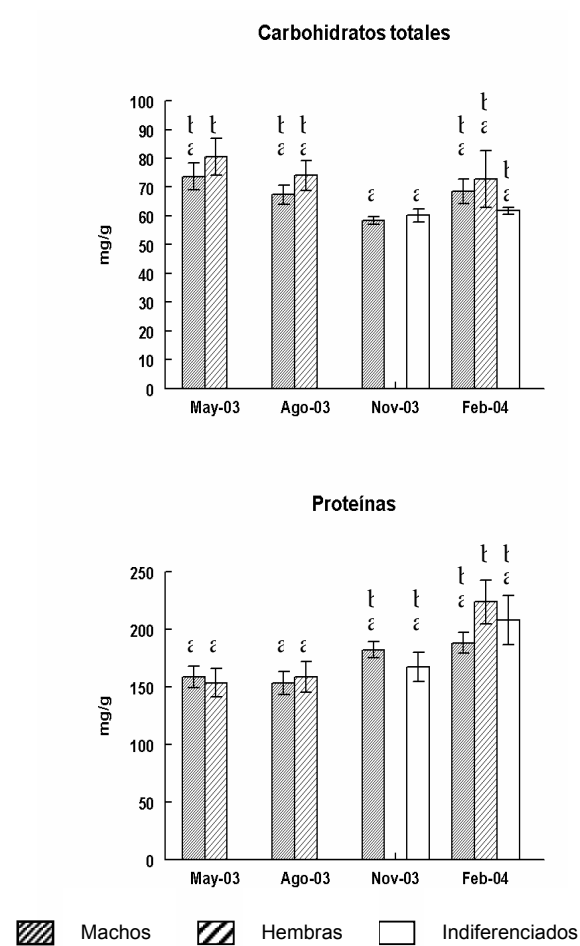


Figura 16. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales y proteínas en el músculo aductor de *Pinctada mazatlanica* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.

7.3.2.3 Componentes bioquímicos de la glándula digestiva.

En relación a la concentración de carbohidratos en la glándula digestiva de *P. mazatlanica*, durante el mes de mayo de 2003 machos y hembras presentaron una concentración promedio de 24.2 mg/g, seguida de un aumento significativo en la concentración durante el mes de agosto hasta alcanzar 30.5 mg/g; y posteriormente se dio un gradual decremento de noviembre del mismo año (25.3 mg/g) a febrero de 2004 (16.4 mg/g) ($F = 14.8$; $p = 0.05$) (Fig. 17). No se observaron diferencias entre los sexos dentro de cada muestreo. No se encontró una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de carbohidratos en la glándula digestiva de las hembras ($r = -0.11$; $p > 0.05$).

En cuanto al contenido de proteína en este tejido, los promedios más bajos se presentaron en los meses de mayo (116.2 mg/g) y noviembre de 2003 (114.0 mg/g), mientras que las ostras muestreadas durante agosto del mismo año (136.3 mg/g) y febrero del siguiente (140.4 mg/g) resultaron tener concentración significativamente más alta de este metabolito, indistintamente del sexo ($F = 8.7$; $p < 0.05$) (Fig. 17). La talla de los ovocitos no presentó una correlación significativa con la concentración de proteínas en la glándula digestiva ($r = -0.33$; $p > 0.05$).

La concentración lipídica en la glándula digestiva se mantuvo en un intervalo relativamente estrecho (de 20 a 30 mg/g) (Fig. 17), sin embargo estas variaciones presentaron diferencias significativas ($F = 2.5$; $p < 0.05$). Existió diferencia significativa entre la concentración que presentaron los machos en noviembre de 2003 (21.4 mg/g) y las hembras en febrero de 2004 (30.5 mg/g). No se obtuvo una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de lípidos en la glándula digestiva ($r = -0.21$; $p > 0.05$).

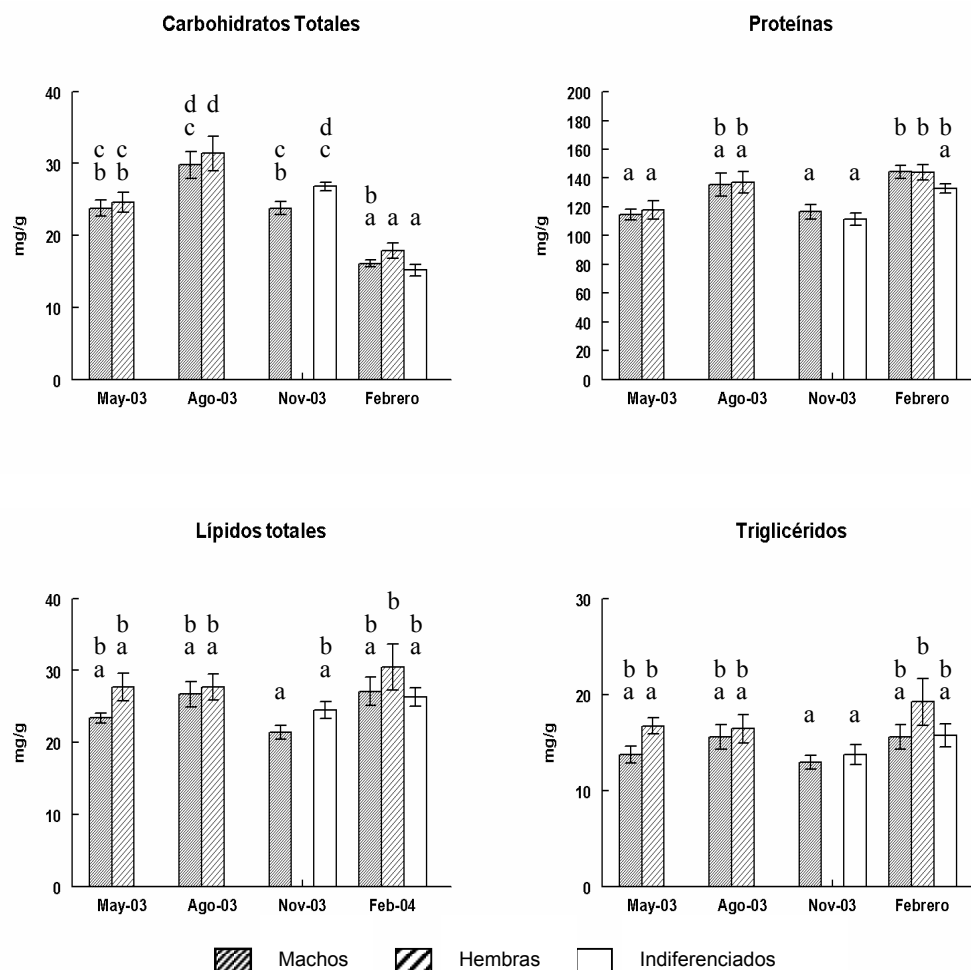


Figura 17. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en la glándula digestiva de *Pinctada mazatlanica* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.

En relación a la concentración de triglicéridos en la glándula digestiva, ésta se mantuvo relativamente constante con promedios de 15.2 mg/g en mayo, 16.0 mg/g en agosto, 13.3 mg/g en noviembre de 2003 y 16.8 mg/g en febrero del año siguiente, siendo significativamente distinta la concentración de machos e indiferenciados de noviembre con relación a las hembras de febrero ($F = 2.1$; $p < 0.05$) (Fig. 17). No se

encontró una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de triglicéridos en la glándula digestiva de las hembras ($r = 0.11$; $p > 0.05$).

7.3.2.4 Componentes bioquímicos del manto.

Durante mayo de 2003, machos y hembras presentaron una concentración promedio de carbohidratos en el manto de 3.8 mg/g, la cual se elevó significativamente para agosto hasta alcanzar un promedio de 8.5 mg/g, manteniéndose similar para noviembre con 7.9 mg/g. La concentración significativamente más baja de carbohidratos en este tejido se presentó durante febrero de 2004 con 2.08 mg/g ($F = 23.1$; $p < 0.001$) (Fig. 18). No se observan diferencias entre los sexos dentro de cada muestreo. La correlación entre la talla de los ovocitos y la concentración de carbohidratos en el manto no resultó ser significativa ($r = 0.23$; $p > 0.05$).

En la Figura 18 se observa que del primero al segundo mes de muestreo, hubo un aumento significativo en la concentración de proteína en el manto, de un promedio de 50.4 mg/g en mayo a 75.9 mg/g en agosto de 2003. Para el mes de noviembre del mismo año, la concentración de este metabolito disminuyó nuevamente a 51.2 mg/g, registrándose un ligero aumento para el siguiente mes de febrero (59.2 mg/g) ($F = 3.3$; $p < 0.05$). No se presentó significancia en la correlación entre la talla de los ovocitos y la concentración de proteínas en el manto de las hembras ($r = -0.16$; $p > 0.05$).

En referencia a la concentración de lípidos en el manto de esta especie, se presentó una concentración muy similar durante los meses de mayo (8.2 mg/g) y agosto de 2003 (7.9 mg/g), seguido de una disminución significativa durante noviembre (5.0 mg/g) y febrero (4.3 mg/g) ($F = 13.4$; $p < 0.05$) (Fig. 18). No se obtuvo una correlación

significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de lípidos en el manto de las hembras ($r = 0.20$; $p > 0.05$).

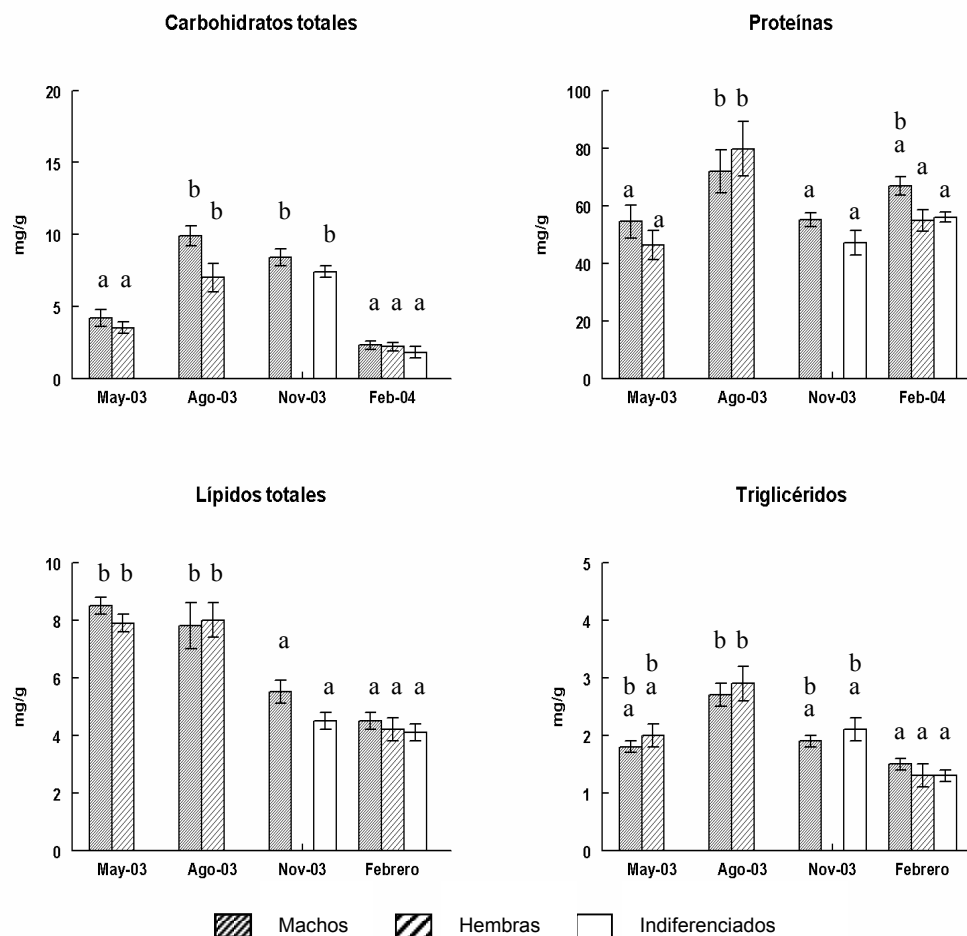


Figura 18. Variaciones estacionales en la concentración promedio de carbohidratos totales, proteínas, lípidos totales y triglicéridos en el manto de *Pinctada mazatlanica* a lo largo del ciclo anual 2003-2004. Las barras indican el error estándar y las letras distintas diferencias significativas ($p < 0.05$) después de ANOVA y Tukey.

En relación a la concentración de triglicéridos en las muestras de manto de esta especie, en el primer mes de muestreo, indistintamente del sexo, se presentó una concentración promedio de 1.9 mg/g, aumentando para agosto a 2.8 mg/g, y decreciendo gradualmente hasta llegar a la menor concentración registrada durante

febrero (1.36 mg/g) ($F = 8.9$; $p < 0.05$) (Fig. 18). No se obtuvo una correlación significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de triglicéridos en el manto de las hembras ($r = -0.09$; $p > 0.05$).

7.3.3 Análisis energético.

En la Tabla II se presentan las variaciones en el contenido energético de los componentes bioquímicos de los diferentes tejidos, con respecto al estadio gametogénico de los organismos. En esta se observa que en la gónada de los organismos de *P. mazatlanica*, el contenido energético aportado por los carbohidratos presentó variaciones significativas que no parecen tener relación con el ciclo reproductivo ($F = 6.7$; $p < 0.001$). Por el contrario, las proteínas presentaron un gradual aumento altamente significativo desde la etapa de indiferenciación a la etapa de madurez, presentándose los mayores valores en machos y hembras maduros (hasta 12.1 kJ/g) ($F = 17.3$; $p < 0.001$). De igual manera, la energía lipídica se incrementó de manera altamente significativa en las gónadas de organismos indiferenciados a las de hembras en desarrollo y a su vez en madurez ($F = 21.8$; $p < 0.001$). Sin embargo, este aumento no se vio reflejado en las gónadas de machos, que se mantienen sin diferencia con relación a la de organismos sin diferenciación sexual.

En lo que respecta al músculo de esta especie, se observa en la Tabla II una cantidad significativamente mayor de energía correspondiente a carbohidratos en organismos maduros de ambos sexos, que en organismos indiferenciados y en etapas de desove y posdesove ($F = 4.4$; $p < 0.05$). Las proteínas, por el contrario, presentaron una disminución en su contenido energético desde la etapa de indiferenciación a la etapa de

madurez, en ambos sexos, sin embargo esto no se vio reflejado estadísticamente en diferencias significativas ($F = 1.8$; $p > 0.05$).

Por su parte, la glándula digestiva no presentó variaciones significativas en su contenido energético de carbohidratos ($F = 0.7$; $p > 0.05$), proteínas ($F = 1.5$; $p > 0.05$) ni lípidos ($F = 1.9$; $p > 0.05$) con respecto al estadio de desarrollo gametogénico de los organismos, aportando las proteínas la mayor cantidad de energía, seguida de los lípidos y finalmente de los carbohidratos. Asimismo, no se detectaron en el manto variaciones significativas en la cantidad de energía de carbohidratos ($F = 1.7$; $p > 0.05$) y proteínas ($F = 1.8$; $p > 0.05$), pero sí de lípidos ($F = 5.9$; $p < 0.05$), observándose una mayor cantidad de energía aportada por este componente en machos y hembras en etapa de madurez que en organismos indiferenciados sexualmente.

Tabla II. Variaciones en el contenido energético aportado por cada componente bioquímico en los diferentes tejidos de *P. mazatlanica* durante los diferentes estadios gametogénicos. (Kj por gramo de peso seco)

E.G.	Músculo				Gónada						G. Digestiva						Manto					
	Cho kJ · g ⁻¹		Pro kJ · g ⁻¹		Cho kJ · g ⁻¹		Pro kJ · g ⁻¹		Lip kJ · g ⁻¹		Cho kJ · g ⁻¹		Pro kJ · g ⁻¹		Lip kJ · g ⁻¹		Cho kJ · g ⁻¹		Pro kJ · g ⁻¹		Lip kJ · g ⁻¹	
IND	3,9 ^a		14,0 ^a		0,6 ^a		5,6 ^a		1,2 ^a		1,6 ^a		9,8 ^a		3,6 ^a		0,6 ^a		6,8 ^a		1,0 ^a	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
DES	4,4 ^{ab}	4,8 ^{ab}	12,3 ^a	14,3 ^a	0,7 ^{ab}	1,0 ^b	8,5 ^{bc}	10,9 ^{cd}	2,1 ^{ab}	2,8 ^b	1,7 ^a	1,8 ^a	10,9 ^a	11,3 ^a	3,7 ^a	4,1 ^a	0,7 ^a	0,5 ^a	8,8 ^a	8,9 ^a	1,7 ^{abc}	1,5 ^{abc}
MAD	5,5 ^b	5,3 ^b	11,6 ^a	10,9 ^a	0,8 ^{ab}	0,8 ^{ab}	10,5 ^{cd}	12,1 ^d	2,0 ^{ab}	6,4 ^c	1,9 ^a	1,6 ^a	9,8 ^a	9,8 ^a	3,5 ^a	4,1 ^a	0,6 ^a	0,4 ^a	8,2 ^a	6,0 ^a	2,1 ^c	1,9 ^{bc}
DSV	3,9 ^a		11,5 ^a		0,5 ^a		6,3 ^{ab}		1,0 ^a		1,4 ^a		10,0 ^a		3,2 ^a		0,9 ^a		7,3 ^a		1,4 ^{abc}	
PDS	4,0 ^a		14,8 ^a		0,6 ^a		6,7 ^{ab}		1,3 ^a		1,5 ^a		10,0 ^a		3,3 ^a		0,7 ^a		7,9 ^a		1,2 ^a	

E.G. = Estadio gametogénico. Letras distintas denotan diferencias significativas por columna de componente bioquímico ($\alpha = 0.05$).

8. Discusión.

8.1. Efecto de la temperatura en el ciclo reproductivo de las especies.

Los principales eventos reproductivos en moluscos bivalvos (e.g. síntesis, almacenamiento y utilización de nutrientes y compuestos neuroendócrinos) son coordinados por factores endógenos, así como por estimulantes exógenos entre los que destacan la temperatura, salinidad y disponibilidad de alimento (Giese, 1959; Giese y Pearse, 1974; Sastry, 1979). Se ha puesto especial interés en la temperatura como factor determinante, ya que este factor varía cíclicamente y sirve como indicador estacional de la respuesta reproductiva de los organismos. En relación a *P. sterna* se pudo confirmar que la gametogénesis se realiza en las cuatro estaciones del año, dentro de un intervalo de temperaturas muy variable que va desde los 20 °C en invierno (enero) hasta los 28 °C en otoño (octubre). No obstante, únicamente se encontraron organismos maduros de esta especie en los meses más fríos de invierno (enero a 20.2 °C) e inicios de primavera (abril a 21.4 °C), cuando se presentaron temperaturas cercanas al mínimo registrado. Además, al observar la frecuencia de los diferentes tipos de ovocitos, se aprecia que, si bien en los cuatro muestreos se tiene una importante proporción de ovocitos vitelogénicos, es en las estaciones de invierno y primavera donde se concentra la mayor proporción de ovocitos posvitelogénicos. Por el contrario, en verano de 2003 (julio a 24.1 °C), la mayor parte de la población muestreada se encontró en estadio de indiferenciación o desarrollo, con una baja proporción de organismos en desove y postdesove, teniendo para el otoño (octubre a 28.3 °C) únicamente organismos en desarrollo incipiente e indiferenciación.

La anterior tendencia concuerda con lo reportado por Saucedo y Monteforte (1997) para la misma especie y en la misma localidad, quienes localizaron dos picos de

maduración, en enero-febrero con temperaturas de 20-22 °C y en mayo con temperaturas entre 23-25 °C,. Por su parte, Arizmendi-Castillo (1996) encuentra que el pico de la temporada reproductiva de esta especie en Guaymas, Sonora, se da entre otoño e invierno, con temperaturas que oscilan entre los 28 °C (octubre) a 16.6 °C (enero), así como en primavera cuando la temperatura es de 18.7 a 22.2 °C (abril-mayo). En Bahía de Los Ángeles, Baja California, Díaz y Bückle (1996), mencionan que *P. sterna* desova continuamente a lo largo del año, con picos en diciembre, febrero y agosto. En Laguna ojo de Liebre, en la costa Oeste de la Península de Baja California y en una latitud templada, Hernández-Olalde (2003) encuentra que *P. sterna* se reproduce anualmente con un pico bien marcado de junio a septiembre, cuando la temperatura de agua se incrementa gradualmente de 20 a 24 °C.

Por lo tanto, se confirma que *P. sterna* se comporta como una especie euritérmica, es decir con un intervalo de tolerancia amplio a la temperatura dentro del cual puede realizar gametogénesis. En localidades templadas como Laguna Ojo de Liebre su reproducción se limita a los meses de verano, mientras que en localidades tropicales como el Golfo de California se reproduce todo el año, aunque tiene preferencia por los meses de invierno.

En relación a *P. mazatlanica* se observa que el 100 % de la población se encuentra en etapa de desarrollo o madurez durante los meses cálidos de primavera-verano, cuando la temperatura del agua se encuentra entre 23 y 28 °C, observándose que a partir de noviembre comienza la etapa de reposo, con la mayor parte de la población en desove e indiferenciación. Otros autores han encontrado que en el Golfo de California esta especie presenta un único pico reproductivo bien definido durante el verano, cuando la temperatura del agua oscila entre 27 y 30 °C (Sevilla, 1969; Arizmendi-

Castillo, 1996; García-Domínguez, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997), sin embargo Saucedo et al. (2002) reportan, además del pico mencionado de verano, otro pico importante durante la primavera, el cual es más intenso en términos de alta frecuencia y talla de ovocitos post-vitelogénicos, así como de niveles altos de proteína y lípidos en la gónada y concentraciones bajas de proteína en el músculo. De igual manera, en mayo de 2003 se encontró la mayor frecuencia de ovocitos post-vitelogénicos y niveles altos de proteína en gónada que coinciden con niveles relativamente bajos de proteína en el músculo.

Con esto se confirma que en el Golfo de California *P. mazatlanica* limita su reproducción a los meses cálidos de del año, cuando la temperatura del mar se eleva, mientras *P. sterna* prefiere los meses fríos. El hecho de que las dos especies presenten ciclos reproductivos distintos puede deberse al principio ecológico de la competencia. Krebs (1985) menciona que cuando dos especies compiten por recursos, una de ellas siempre obtendrá resultados más satisfactorios en la adquisición o la utilización del recurso que escasee. A largo plazo, la población de una de las especies disminuirá y finalmente desaparecerá, a menos que surja alguna conducta adaptativa para escapar a la competencia. Este puede ser el caso de la concha nácar y la madreperla, ya que las dos comparten, por lo menos, el nicho trófico al ser organismos filtradores suspensívoros.

Es posible que las estrategias reproductivas de algunos bivalvos les permitan responder de manera rápida y clara ante los cambios en las condiciones ambientales, sean éstas favorables o desfavorables, modificando aspectos importantes del ciclo reproductivo. En este sentido, se sugiere la existencia en estas especies de procesos de gametogénesis alternativos y/o consecutivos, los cuales ocurren de manera rápida y corta después de finalizado el desove y prevalecen hasta que las condiciones

ambientales (e.g. temperatura) son aún favorables. Dichos procesos alternos cortos, en donde se incluyen los estadios de desarrollo, madurez y desoves parciales únicamente (sin entrar a la etapa de indiferenciación o reposo sexual), implican el reciclaje de nutrientes provenientes de gametos residuales. Este mismo comportamiento ha sido recalcado previamente por Román et al (2002) en el pectínido *Aequipecten opercularis*.

A pesar de que se ha tomado la temperatura y otros factores exógenos como determinantes del ciclo reproductivo de los organismos marinos, también se ha observado que existe un fuerte componente genético que es hasta cierto punto independiente de las condiciones ambientales. Loosanoff y Nomejko (1951), Loosanoff (1969), así como Barber et al. (1991), trabajando con trasplantes de *Crassostrea virginica* de una localidad a otra dentro de la costa este de los Estados Unidos encontraron que organismos trasplantados conservan la temporalidad de su ciclo reproductivo, diferente de la población nativa, incluso seis generaciones después de haber sido trasplantados. Por lo tanto, a pesar de que aparentemente la presencia de organismos en reposo reproductivo es ocasionada por factores externos, la diferencia en la temporalidad de los eventos reproductivos en *P. sterna* y *P. mazatlanica*, refleja dicho componente genético. Además la etapa de indiferenciación puede ser parte de la estrategia reproductiva de la especie, ya que, como se discutirá más adelante, en esta etapa se da una acumulación importante de reservas energéticas en los tejidos corporales que posteriormente son utilizadas para cubrir las necesidades de la gametogénesis.

8.2. Almacenamiento y utilización de reservas energéticas durante la gametogénesis.

Se ha mencionado en reiteradas ocasiones que el glucógeno es el principal metabolito de reserva para los moluscos bivalvos. Este componente funciona como combustible para la gametogénesis, y además puede ser utilizado como sustrato para la síntesis de lípidos y/o proteínas que son transferidos al vitelo de los ovocitos en desarrollo durante la gametogénesis (Gabbott, 1975; Barber y Blake, 1991; Racotta, 1998). Dado que el principal componente de los carbohidratos es el glucógeno (Saucedo et al 2002), se tomó en cuenta la concentración de carbohidratos totales como equivalente a la de glucógeno. No se observó una acumulación importante de este componente en la gónada de ninguna de las dos especies en relación a la condición reproductiva, lo cual constata lo encontrado por Saucedo et al (2002) para *P. mazatlanica*. Esto ha sido observado en algunos pectínidos (Barber y Blake, 1981; Couturier y Newkirk, 1991; Martínez, 1991; Pazos et al, 1996) y venéridos (Lomovasky et al, 2004). Ello sugiere que en estas especies, el glucógeno no se almacena en la gónada sino que es rápidamente utilizado para los procesos antes mencionados.

Durante la temporada reproductiva, es decir, en invierno y primavera para *P. sterna*, y en primavera y verano para *P. mazatlanica* (en ambos casos con más del 50 % de la población en estadio de desarrollo o madurez), se presenta una importante acumulación de proteína en la gónada, correspondiente a la formación de gametos. Ello se refleja en un gradual incremento de la energía proteica en la gónada de machos y hembras de ambas especies, desde la etapa de indiferenciación hasta la de madurez. Este aumento en la concentración de proteínas en la gónada durante el desarrollo gametogénico y la

madurez ha sido observado por otros autores en moluscos bivalvos (Barber y Blake, 1981; Epp et al., 1988; Pazos et al., 1996; Arellano-Martínez et al., 2004).

Se aprecia, al igual que lo obtenido anteriormente para *P. mazatlanica* (Saucedo et al., 2002) y otras especies de moluscos bivalvos como *P. maximus* (Pazos et al., 1996), *C. islandica* (Brokordt y Guderley, 2004) y *N. subnodosus* (Arellano-Martínez et al., 2004) entre otros, una importante acumulación de lípidos y triglicéridos en la gónada de los organismos durante la temporada reproductiva, pero ésta se da particularmente en las hembras, manteniéndose machos y organismos sin diferenciación sexual con niveles bajos de dichos compuestos. Esto se aprecia de manera más clara al observar el contenido energético correspondiente a los lípidos de la gónada de las hembras en ambas especies, que sigue un incremento gradual del estadio de indiferenciación al estadio de madurez, presentándose en este último el mayor valor energético. Por el contrario, el valor energético de la gónada de los machos de todo el ciclo reproductivo fue considerablemente más bajo. Se ha mencionado en diversas ocasiones, incluso en este trabajo, la importancia de los lípidos en los huevos y larvas de bivalvos, en cuyo citoplasma las reservas nutritivas se encuentran en forma de gotas lipídicas formando el vitelo (agregados de lipoproteínas llamados vitelinas) y vesículas lipídicas (Holland, 1978).

Dentro de los tipos de lípidos presentes, los triglicéridos desempeñan un rol importante en la reserva de energía, mientras que los lípidos polares, principalmente los fosfolípidos, desempeñan una función más bien estructural, como componentes de las membranas de células y tejidos (Trider y Castell, 1980). Besnard (1991) encontró en *P. maximus*, que el contenido de triglicéridos, expresado como porcentaje de lípidos totales, presenta un ciclo que corresponde con el desarrollo de los ovocitos y con la

etapa de desove. Por su parte, Pazos et al. (1996), mencionan que los cambios estacionales en el contenido de acilgliceroles (principalmente triglicéridos) en la misma especie, están claramente influenciados por el ciclo reproductivo. En el presente trabajo se observa igualmente que en la gónada de las hembras de las dos especies, existe una variación en la proporción de triglicéridos, con respecto a lípidos, que se encuentra influenciada por el ciclo reproductivo. Ello debido a que en el ovario de hembras en desarrollo y madurez se presenta un mayor porcentaje de triglicéridos (43-53 % en *P. sterna* y 42-49 % en *P. mazatlanica*) que en la gónada masculina de cualquier estadio (11-31 % en *P. sterna* y 23-29 %) y que en la gónada de organismos sexualmente indiferenciados (33 % en *P. sterna*, y 26 % en *P. mazatlanica*). Los valores de porcentaje de triglicéridos en el presente estudio siguieron una tendencia similar, aunque resultaron ligeramente más bajos que los reportados por Saucedo et al (2002) para *P. mazatlanica*, quienes encontraron valores que van de 53 a 68 %, con este último valor obtenido durante el pico de madurez de agosto. En estudios sobre pectínidos, se han reportado proporciones de acilgliceroles de 20 a 60 % (Besnard, 1991) y de 20 a 65 % (Pazos et al., 1996) en el ovario de *P. maximus*, y de 10 a 60 % en la gónada de *P. magellanicus* (Napolitano y Ackman, 1992), con los porcentajes más elevados correspondiendo a los organismos maduros.

Con respecto al músculo aductor, se observó una mayor concentración de carbohidratos totales por gramo de tejido en *P. mazatlanica* que en *P. sterna*. A pesar de ello, en ambas especies se observó un patrón similar en términos de una mayor concentración de carbohidratos en el músculo, equivalente a un mayor contenido energético en este tejido en hembras y machos durante estadios avanzados de desarrollo o madurez, que en el de organismos sin diferenciación sexual. Las concentraciones de

carbohidratos en el músculo de *P. mazatlanica* y sus variaciones con respecto al ciclo reproductivo concuerdan con las obtenidas por Saucedo et al (2002) para la misma especie en la misma localidad. De igual forma, Lomovasky et al. (2004) observan que en *Eurhomalea exalbida* el glucógeno del músculo aumenta conforme se da la maduración de las gónadas, mientras que Racotta et al. (1998) encuentran una mayor concentración de glucógeno en el músculo de organismos de la especie *Argopecten ventricosus* en desarrollo que en el de organismos desovados. Arellano-Martínez et al (2004) también encuentran un aumento en la concentración de carbohidratos en el músculo durante el desarrollo gametogénico, sin embargo observan un decremento en dicha concentración durante la fase final de maduración y durante el desove, y sugieren que los carbohidratos se almacenan en el músculo para satisfacer esas etapas tardías de la gametogénesis. En *P. sterna* y *P. mazatlanica* también se observa un decremento en la concentración de carbohidratos en el músculo de los machos posterior a la maduración, en las etapas de desove y post-desove, lo cual podría indicar que estas especies siguen un patrón similar al sugerido por los citados autores. Desgraciadamente no se colectaron hembras en estadios de desove con las cuales se pudiera confirmar dicha tendencia también en las hembras.

Las proteínas, además del glucógeno, pueden funcionar como reserva energética y como elemento estructural en moluscos bivalvos adultos, principalmente durante la gametogénesis (Epp et al., 1988; Galap et al, 1997; Lomovasky, 2004). De acuerdo con ello, aparentemente en *P. sterna* y *P. mazatlanica*, el almacenamiento de proteínas en el músculo aductor desempeña un rol importante en el suministro de energía y elementos estructurales para la formación del tejido gonadal. En ambas especies, el almacenamiento de proteínas en el músculo aductor sigue un patrón inverso al de la

gónada, presentándose una mayor concentración de este metabolito en organismos indiferenciados o en postdesove, que en aquellos que exhiben actividad reproductiva. Consecuentemente, se observó un gradual decremento en el contenido de energía proteica del músculo, desde la etapa de indiferenciación hasta la de madurez.

El almacenamiento y utilización de proteínas y/o carbohidratos del músculo, y su importancia relativa, presenta diferencias inter e intraespecíficas en algunos moluscos bivalvos. En algunas investigaciones sobre los pectínidos *Argopecten irradians concentricus* (Barber y Blake, 1981), *Placopecten magellanicus* (Robinson et al, 1981), *Argopecten purpuratus* (Martínez, 1991; Martínez y Mettifogo, 1998), *Nodipecten nodosus* (Lodeiros et al, 2001), *A. opercularis* (Román et al, 2002), *Chlamys islandica* (Brokordt y Guderley, 2004), *N. subnodosus* (Arellano-Martínez, 2004), así como el mitílido *Mytilus edulis* (Lowe et al, 1982; Bayne et al, 1983), se ha demostrado que el glucógeno se almacena en el músculo y se agota a costa de la formación de las gónadas. Por otro lado, en otras investigaciones sobre *A. irradians concentricus* (Barber y Blake, 1985), *A. irradians irradians* (Epp et al, 1988), *P. magellanicus* (Couturier y Newkirk, 1991), *Pecten maximus* (Pazos et al, 1997), *Glycymeris glycymeris* (Galap et al., 1997), *A. ventricosus* (Racotta et al, 1998), *N. subnodosus* (Racotta et al, 2003), *Eurhomalea exalbida* (Lomovasky et a., 2004), se ha reportado que las proteínas del músculo aductor representan la principal reserva energética endógena destinada a cubrir las necesidades de la gametogénesis. Tanto *P. sterna* como *P. mazatlanica* mostraron una tendencia similar a la que presentaron organismos con una clara preferencia hacia el almacenamiento de proteínas en el músculo aductor. Saucedo et al (2002) también encontraron que el almacenamiento de proteínas se da preferentemente en el músculo

aductor, como una estrategia para asegurar que sean satisfechas las necesidades de la gametogénesis de *P. mazatlanica*.

La glándula digestiva de los moluscos es responsable de almacenamiento de nutrientes y transferencia de alimentos asimilados a los tejidos corporales, y que la iniciación de la fase de crecimiento ovocitario es dependiente de la acumulación y transferencia de reservas nutritivas de la glándula digestiva a la gónada (Sastry y Blake, 1971;; Gabbott, 1976; Barber y Blake, 1991; Pazos et al. 1996; Raccotta et al, 1998; Lodeiros et al, 2001; Román et al, 2001; Arellano-Martínez et al, 2004). De acuerdo con esto, los resultados muestran una importante función de la glándula digestiva en el almacenamiento de reservas en forma de proteínas y lípidos con fines reproductivos en *P. sterna*. Sin embargo, en *P. mazatlanica*, aparentemente la glándula digestiva no participa tan activamente en esta función.

En la glándula digestiva de la *P. sterna* se observa un decremento significativo en la concentración de proteína de la etapa de indiferenciación a la de madurez, paralelo al aumento de estos componentes en la gónada, tanto en machos como en hembras, lo cual sugiere que las proteínas pueden ser transferidos de tejido a tejido y utilizadas como componentes estructurales en la formación de gametos. De igual Arellano-Martínez et al. (2004), observan un rápido decremento en la concentración de proteínas en la glándula digestiva de *N. subnodosus* durante las etapas tempranas de desarrollo de los gametos, lo cual atribuyen a una transferencia de elementos estructurales para satisfacer la diferenciación gametogénica. Por el contrario en *P. mazatlanica* no se observan variaciones significativas en la concentración de proteína en relación al ciclo reproductivo, y tampoco en relación al sexo, lo cual concuerda con lo encontrado por Racotta et al (2003) para *N. subnodosus*. Además, la concha nácar presenta una mayor

concentración de proteína en este tejido en organismos indiferenciados en comparación con la madreperla.

En general, se considera que en los moluscos bivalvos los lípidos son acumulados preferentemente en la glándula digestiva (Barber y Blake, 1991; Raccotta et al, 1998; Román et al, 2002; Arellano-Martínez et al, 2004), lo cual se corrobora al encontrar los valores más elevados de concentración de estos componentes en dicho tejido. Sin embargo, se pudo observar una acumulación diferencial de lípidos en la glándula digestiva de *P. sterna* y *P. mazatlanica*, ya que la primera presenta una mayor concentración de lípidos en organismos con actividad reproductiva y maduros que en ostras sin diferenciación sexual, mientras que en la segunda especie la concentración de lípidos se mantiene prácticamente constante a lo largo del ciclo anual. Esto puede indicar que en la concha nácar se da una síntesis de lípidos en la glándula digestiva durante la gametogénesis y estos lípidos pueden transferirse de forma inmediata a la gónada.

Diversas investigaciones demuestran que el manto de *Mytilus edulis* es el sitio principal de desarrollo gonadal y esta sujeto a cambios estacionales en su composición celular, durante los cuales la gónada se desarrolla a expensas de tejido conectivo de almacenamiento (Lowe et al., 1982; Peek y Gabbott, 1990; Gabbott y Peek, 1991). Dada la importancia del manto en la reproducción de los mitílidos, el estudio de las variaciones en los componentes bioquímicos de este tejido en relación a la reproducción ha sido poco estudiado en otras familias de moluscos bivalvos. Sin embargo, este tejido puede tener una función importante en el almacenamiento de reservas nutritivas en otras especies como lo demuestra Arellano-Martínez et al (2004), quienes encuentran un ciclo de almacenamiento y movilización de reservas, particularmente de carbohidratos y

proteínas, en relación con el ciclo reproductivo de *Nodipecten subnodosus*. En este trabajo no se encontró una relación entre las variaciones en el contenido de componentes bioquímicos con la gametogénesis de *P. sterna*, e incluso en el análisis energético no se observan diferencias significativas entre el contenido energético de carbohidratos, proteínas o lípidos entre los diferentes estadios gametogénicos. En *P. mazatlanica* tampoco se observa que el contenido de carbohidratos o lípidos del manto tenga alguna relación con el ciclo reproductivo, sin embargo, se aprecia que en los meses con mayor actividad reproductiva (mayo y agosto de 2003) se presenta un mayor contenido de lípidos en el manto de machos y hembras que en noviembre del mismo año y febrero de 2004. En el análisis energético sobre la madreperla también se observa dicha acumulación de energía lipídica en el manto de machos y hembras durante la madurez de los organismos, que se diferencia estadísticamente de el contenido lipídico de organismos indiferenciados, y en el caso de los machos también de los organismos en post-desove.

En las tablas de contenido energético se puede tener un panorama general de las principales estrategias que siguen ambas especies de ostras perleras en términos de almacenamiento y utilización de la energía durante el ciclo reproductivo. En la gónada de machos y hembras de ambas especies se observa una gradual acumulación de energía proteica directamente proporcional a la gametogénesis, lo cual se confirma en el caso de las hembras en desarrollo y madurez al encontrar una correlación positiva significativa entre la talla de los ovocitos y la concentración de proteína en la gónada. Lo mismo sucede con la energía de los lípidos en la gónada de las hembras, que también presenta una correlación positiva con la talla de los ovocitos. Esta acumulación de lípidos, sin embargo, no se observa en los machos. Las reservas endógenas utilizadas y agotadas

para satisfacer esta demanda energética por parte de la gónada provienen de las proteínas del músculo aductor principalmente, ya que en el caso de las hembras se encuentra una correlación negativa significativa entre su concentración y la talla de los ovocitos. La glándula digestiva de *P. sterna* aparentemente también participa en el aporte de proteínas a la gónada, aunque no se obtuvo una correlación significativa con la talla de los ovocitos. Estas reservas energéticas se almacenan en los tejidos mencionados durante la etapa de indiferenciación o reposo de la actividad reproductiva. Sin embargo, en el balance energético se observa que dicha demanda de energía por parte de la gónada para satisfacer su desarrollo no puede ser cubierta totalmente por las reservas almacenadas en los tejidos, por lo que el alimento ingerido recientemente puede tener una función preponderante. Además, puesto que en ninguna de las dos especies se encontraron diferencias importantes en cuanto a las variaciones de los componentes energéticos dentro los tejidos de almacenamiento entre machos y hembras -las cuales pudieran justificar la mayor concentración de lípidos y proteínas en la gónada de hembras que en la de machos- se sugiere que la mayor demanda energética por parte del ovario debe ser cubierta por el alimento ingerido recientemente, mientras que las reservas somáticas podrían aportar un porcentaje mayor de la energía para sostener el desarrollo de la gónada masculina. Es importante aclarar que estos resultados deben tomarse con reserva, ya que los valores energéticos presentados corresponden a una muestra de tejido seco y no al total de la energía contenida en los tejidos. Estos resultados permiten tener una aproximación del estado fisiológico del tejido, pero no del organismo completo.

Bajo los supuestos anteriores, parece que ambas especies tienen una estrategia oportunista en el sentido de que sus reservas tisulares no son suficientes para cubrir las

necesidades energéticas de la gónada. Sin embargo las dos especies utilizan como principal reserva endógena las proteínas del músculo abductor, y sobretodo *P. sterna* utiliza secundariamente las proteínas de la glándula digestiva para sostener la gametogénesis, por lo que se podría decir que estas especies tienen la capacidad de utilizar una estrategia conservadora. En este sentido, se han realizado una gran cantidad de estudios en moluscos bivalvos que demuestran que, en relación a las estrategias oportunistas o conservadoras, además de las variaciones entre las especies, se dan variaciones entre poblaciones de la misma especie, e incluso se dan variaciones entre los sexos. Racotta et al (2003) reportan que *N. subnodosus* se comporta como una especie oportunista en Bahía Magdalena, debido a que este cuerpo de agua es una laguna costera eutrofica, mientras que Arellano-Martínez et al. (2004) encontraron un claro ciclo de almacenamiento y utilización de nutrientes en relación a la gametogénesis (estrategia conservadora) en la misma especie, pero en Laguna Ojo de Liebre, que presenta en general una menor concentración de alimento. A su vez, Brokordt y Guderley (2004), observan que en *C. islandica* la mayoría de los requerimientos para la maduración y el desove en hembras debe ser cubierto por el alimento ingerido recientemente (estrategia oportunista), mientras que las reservas almacenadas en los tejidos somáticos aparentemente cubren la mayoría de los requerimientos para la reproducción en machos (estrategia conservadora), lo cual resulta muy similar a lo obtenido en esta tesis con ostras perleras. Sin embargo, para concluir si estas especies siguen una estrategia oportunista, conservadora o una combinación de ambas, es necesario realizar estudios que involucren la variación en la disponibilidad de alimento en la columna de agua.

Los resultados de este trabajo aportan información valiosa acerca de las estrategias de almacenamiento y utilización de energía con fines reproductivos en ostras perleras que, si bien están mantenidas bajo condiciones de cultivo, se encuentran expuestas a las condiciones ambientales de manera relativamente similar a los organismos silvestres (salvo por la densidad de siembra en las canasta de cultivo). Dicha información puede servir de base a los criaderos o laboratorios productores de semilla para establecer las estrategias de manejo de reproductores durante su maduración “artificial”. Sin embargo, resulta interesante analizar en futuras investigaciones las estrategias de utilización de la energía en organismos mantenidos bajo condiciones controladas (e.g. a partir del suministro de dietas con diferente valor nutricional), ya que esto permitirá realizar comparaciones y establecer criterios de la calidad o del éxito con que se este llevando a cabo el acondicionamiento de reproductores. Una vez establecidos dichos criterios se podrán realizar todo tipo de experimentos tendientes a optimizar el manejo de reproductores en el laboratorio.

Se recomienda realizar estudios que analicen la relación de la dinámica de los nutrientes en los diferentes tejidos con el alimento disponible, ya sea con organismos del campo, o bien con organismos mantenidos en el laboratorio con cantidades conocidas de alimento suministrado, lo que permitirá tener una idea más clara de las estrategias utilizadas por las especies. Asimismo, se recomienda tomar en cuenta las variaciones en el peso de los diferentes tejidos paralelo al análisis de sus componentes bioquímicos, ya que de esa manera se podrá realizar un balance total de la energía. En ese sentido, dada la imposibilidad de registrar el peso de tejidos como la glándula digestiva y la gónada (ya que la segunda se desarrolla de manera difusa sobre la

primera) se podrían realizar estudios de tipo volumétrico, con ayuda de herramientas como la estereología.

9. Conclusiones.

- *P. sterna* se reproduce todo el año con mayor intensidad en los meses fríos, por lo que aparentemente prefiere madurar cuando baja la temperatura.
- *P. mazatlanica* es una especie que presenta un evento reproductivo en los meses cálidos del año; madura cuando se eleva la temperatura.
- Durante la gametogénesis ocurrió una acumulación de proteínas en la gónada de machos y hembras, y de lípidos y triglicéridos en la gónada de las hembras en las dos especies estudiadas.
- El músculo aductor de ambas especies almacenó proteínas y estas reservas disminuyeron durante el desarrollo gametogénico.
- La glándula digestiva de *P. sterna* participó de forma secundaria en el almacenamiento de proteína y lípidos en relación con la gametogénesis.
- La glándula digestiva de *P. mazatlanica* no varió su composición bioquímica en relación con la gametogénesis.
- El manto aparentemente no participa en el almacenamiento de energía en relación con el ciclo reproductivo en ninguna de las dos especies.
- Las reservas endógenas parecen no ser suficientes para satisfacer la demanda de nutrientes por parte de la gónada durante su maduración en ninguna de las dos especies.

10. Literatura citada.

- Ansell, A.D. 1974. Seasonal changes in the biochemical composition of the bivalve *Clamys septemradiata* from the Clyde Sea area. *Mar. Biol.* 25:85-99.
- Arizmendi-Castillo, F. 1996. Ciclo reproductivo de las ostras perleras *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) y *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Pteriidae), en el área de Guaymas, Sonora, México. Tesis de Maestría. ITESM-Campus Guaymas, México.
- Arellano-Martínez, M, I. S. Racotta, B. P. Ceballos-Vázquez, J. F. Elorduy-Garay, 2004. Biochemical composition, reproductive activity and food availability of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* in the Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México. *J. Shellfish Res.*, 23(1): 15- 23.
- Barber, B.J., N. J. Blake. 1981. Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 52: 121-134.
- Barber, B.J., N. J. Blake, 1985. Intra-organ biochemical transformations associated with oogenesis in the scallop *Argopecten irradians concentricus* Say , as indicated by ¹⁴C incorporation. *Biol. Bull.* 168, 39-49.
- Barber, B.J., N. J. Blake, 1991. Reproductive physiology. In: Shumway, S.E. Ed. , *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 378-428.
- Barber, B. J., S. E. Ford, R. N. Wargo, 1991. Genetic variation in the timing of gonadal maturation and spawning of the eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Biol. Bull.* 181: 216-221.

- Barnes, H., J. Blackstock, 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method for 'total' lipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 12:103- 118.
- Bayne, B.L. 1976. Aspects of reproduction in bivalve mollusks: In: M. Wiley, editor. *Estuarine Processes*. Vol. 1. London, UK: Academic Press. Pp 432-448.
- Behzadi, S., K. Parivar, P.Roustaian, 1997. Gonadal cycle of pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould) in Northeast Persian Gulf, Iran. *J. Shellfish Res.* 16: 129-135.
- Beninger, P. G., M. Le Penec, 1991. Reproductive physiology. pp. 377-428. *En: S. E. Shumway (ed.). Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier Science, New York.
- Besnard, J.Y. 1991. Seasonal variations in the lipids and fatty acids on the female gonad of the scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758) in the Bay of Seine (French Channel). *In: S.E. Shumway and P.A. Sandifer (eds.). An International Compendium of Scallops Biology and Culture*. World Aquac. Soc., pp. 74-86.
- Beukema, J. J., W. De Bruin, 1979. Calorific values of the soft parts of the tellinid bivalve *Macoma balthica* (L.) as determined by two methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 37:19- 30.
- Bradford, M.M., 1976. A refined method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-253.
- Brokordt, K. B., H. E. Guderley, 2004. Energetic requirements during gonad maturation and spawning in scallops: sex differences in *Chlamys islandica* (Müller, 1776). *J. Shellfish Res.*, 23(1): 25-32.

- Cáceres M., C., C. Ruiz V., D. Ramirez F., 1992. Experimental collection of Peral Oyster, *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna*, spat on a filament substrate. *J. aquaculture Soc.* 23 (3): 232- 240.
- Cariño, M., C. Cáceres, 1990. La perlicultura en la Península de Baja California a principios de siglo. *Serie Científica (Número especial AMAC)*, 1: 1-6
- Cariño, M., M. Monteforte, 1995. History of pearling in the Bay of La Paz, South Baja California, México (1533-1914). *Gems and Gemology* 31: 88-108.
- Couturier, C.Y., Newkirk, G.F., 1991. Biochemical and gametogenic cycles in scallops, *Placopecten magellanicus* Gmelin, 1791 , held in suspension culture. pp. 107–117. *En: Shumway, S.E., Sandifer, P.A. Eds. , An International Compendium of Scallops Biology and Culture.* World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Chellam, A. 1987. Biology of pearl oyster. pp. 13-21. in: K. Alagarswami (ed.). Pearl culture. Bulletin 39, Central Marine Fisheries Research Institute, Cochin, India.
- Díaz, A, L. Bückle, 1996. Ciclo gonádico de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca: Bivalvia) en Baja California, México. *Ciencias Marinas.* 22(4): 495-509.
- Díaz-Garcés, J. 1972. Cultivo experimental de madreperla *Pinctada mazatlanica* Hanley, 1856, en la Bahía de La Paz, México. *Memorias IV Congreso Nacional de Oceanografía, México, D.F. Noviembre 17-19.* pp. 429-442.
- Dorange, G. y M. Le Pennec, 1989a. Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of Saint Briec. *Mar. Biol.*, 103: 339-348.

- Dorange, G., M. Le Pennec, 1989b. Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia). *Invert.Reprod.Develop.* 15(2):109-117.
- Epp, J., V.M Bricelj, R. E. Malouf, 1988. Seasonal partitioning and utilization of energy reserves in two age classes of the bay scallop *Argopecten irradians irradians* (Lamarck). *J. Exp. Mar. Biol.. Ecol.*, 121: 113-136.
- Fassler, R. C., 1991. Farming jewels: the aquaculture of pearls. *Aquac. Mag.* (Sep/Oct): 34- 52.
- Fassler, R. C., 1995. Farming jewels: new development in pearl farming. *World Aquac.* 26: 5-10.
- Gabbott, P.A., 1976. Energy metabolism. pp 293-355. *En*: B.L.Bayne, (edt.), Marine Mussels. England: Cambridge University Press.
- Gabbott, P.A., 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine mollusks. pp. 165-217. *En*: P.W. Hochachka (edt.), The Mollusca. Vol. 2. Environmental Biochemistry and Physiology. Academic Press, New York, NY.
- Gabbot, P.A., K. Peek, 1991. Cellular biochemistry of the mantle tissue of the mussel *Mytilus edulis* L. *Aquaculture*, 94:165-176.
- Galap, C., F. Leboulenger, J. P. Grillot. 1997. Seasonal variations in biochemical constituents during reproductive cycle of the female dog cockle *Glycymeris glycymeris*. *Mar. Biol.* 129: 625-634.
- Gallager, S. M., R. Mann. 1986. Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea gigas* (Gmelin) relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. *Aquaculture* 56:81-103.

- Gallager, S. M., R. Mann, G. C. Sasaki. 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture* 56:81-103.
- García-Dominguez, F., B. Cevallos-Vazquez, A. Tripp, 1996. Spawning cycle of the pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), (Pteriidae) at Isla Espiritu Santo, Baja California Sur, México. *J. Shellfish Res.*, 15 (2): 297-303.
- García-Cuellar, J. A., F. García-Domínguez, D. Lluch-Belda, S. Hernández-Vázquez. 2004. El Niño and La Niña effects on reproductive cycle of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Pteriidae) at Isla Espiritu Santo in the Gulf of California. *J. Shellfish Res.* 23:113-120.
- Gaytán-Mondragón, I., C. Cáceres, M. Tobías, 1992. Growth of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* in different culture structures at La Paz Bay, B. C. S., México. *J. World Aquac. Soc.* 24: 541-546.
- Gervis, M., N. Sims, 1992. Biology and Culture of Pearl Oysters (Bivalvia: Pteriidae). Overseas Development Administration of the United Kingdom. International Center of Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines: 49 p.
- Giese, P. 1969. A new approach to the biochemical composition of mollusk body. *Mar. Biol. Ann. Rev.*, 7: 175:229.
- Giese, A. C., J. S. Pearse, 1974. Molluscs: Pelecypods and lesser classes. pp 112-292. *En: A.C. Giese y J.S. Pearse (eds.). Reproduction of marine invertebrates. Academic Press, New York, Vol. 5.*
- Gómez-Robles, E., C. Rodríguez-Jaramillo, P. Saucedo, 2005. Digital image analysis of lipid and protein histochemical markers for measuring oocyte

- development and quality in pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (HANLEY, 1856). (En prensa).
- Grant, A., P. A. Tyler, 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II. The analysis of oocyte size/frequency data, and comparison of different types of data. *Intern. J. Inver. Repro.* 6:271-283.
- Hernández-Díaz, A. 1993. Ciclo anual de madurez gonádica de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca: Bivalvia) en Baja California, México. Tesis de Maestría. CICESE, México.
- Hernández-Olalde, L., 2003. Ciclo reproductivo de la ostra perlera *Pteria sterna* (MOLLUSCA:PTERIIDA) en la Laguna Ojo de Liebre, B. C. S. Tesis de Maestría. CICIMAR. La Paz, B. C. S. 70 p.
- Holland, D.L., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. *Biochem. Biophys. Perspect. Mar. Biol.*, 4: 85-123.
- Howard, D.W., C. Smith, 1983. Histological techniques for marine bivalve mollusks. US. Dep. Comm., NOAA Tech. Memo. NMFS-F/NEC-25. 242 pp.
- Keen, M., 1979. Seashells of the Tropical West America. Stanford University Press, Stanford, California, 1068 p.
- Krebs, C. J. 1985. Ecología, estudio de la distribución y la abundancia. Harla. México 753 p.
- Langdon, C.J., M.J. Waldock, 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acids composition of *Crassostrea gigas* spat. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 62:431-448.

- Lodeiros, C. J., J. J. Rengel, H. E. Guderley, O. Nusetti, J. H. Himmelman, 2001. Biochemical composition and energy allocation in the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* during the months leading up to and following the development of gonads. *Aquaculture* 199: 63- 72.
- Lomovasky, B. J., G. Malanga, J. Calvo, 2004. Seasonal changes in biochemical composition of the clam, *Eurhomalea exalbida* (BIVALVIA: VENERIDAE), from The Beagle Channel, Argentina. *J. Shellfish Res.* 23(1): 81-87.
- Loosanoff, V. L. , C. A. Nomejko, 1951. Existence of physiologically different races of oysters *Crassostrea virginica*. *Biol. Bull.* 101: 151-156.
- Loosanoff, V. L., 1969. Maturation of gonad of oysters, *Crassostrea virginica*, of different geographical areas subjected to relatively low temperatures. *Veliger* 11: 153-163.
- Lowe, D. M., M. N. Moore, B. L. Bayne, 1982. Aspects of gametogénesis in the marine mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass.* 62: 133-145.
- Lubet, P., 1994. Mollusc culture. In: Barnabé, G. Aquaculture, biology and ecology of cultured species. Ellis Horwood. Great Britain. 81-170 p.
- Mackie, G.L., 1984. Bivalves. In: Tompa, A.S., N.H. Verdonk and J.A.M. Van Den Biggelaas. The Mollusca, Vol. 7: Reproduction. 351-402 p.
- Martínez, A. 1983. Prospección de los bancos de madreperla en el Golfo de California de 1962 a 1965. Tesis de Maestría, CICIMAR-IPN., La Paz, México. 77 p.

- Martinez, G., 1991. Seasonal variation in biochemical composition of three size classes of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* Lamarck, 1819. *Veliger* 34: 335-343.
- Martínez-Fernández, E., H. Acosta-Salmón, C. Rangel-Dávalos, A. Olivera-Bonilla, H. Ruiz-Rubio, A. K. Romo-Piñeira. 2003. Spawning and larval culture of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* in the laboratory. *World Aquaculture* (3):36-39.
- Mathieu, M., P. Lubet. 1992. Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves- a brief review. *Inv. Rep. Dev.*, 23(2-3):123-129.
- McLaurin, D., E. Arizmendi, S. Farrell, M. Nava. 1997. Pearls and pearl oysters from the Gulf of California, México. *The Australian Gemmologist* 19(12):497-502.
- McLaurin, D., E. Arizmendi, S. Farrell, M. Nava. 1999. Pearls and Pearl Oysters from the Gulf of California, México, An Update. *The Australian Gemmologist* 20(6): 239-245.
- Monteforte, M. 1990. Ostras perleras y perlicultura: situación actual en los principales países productores y perspectivas para México. *Serie Científica* (Número Especial AMAC 1):13-18.
- Monteforte, M, A. García-Gasca. 1994. Spat collection studies on pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae) in Bahía de La Paz, South Baja California, México. *Hydrobiologia*, 291: 21-34.
- Monteforte, M., E. Kappelman-Piña, B. López-Espinosa. 1995. Spat fall of pearl oyster, *Pteria sterna* (gould), on experimental collectors at Bahía de la Paz, south Baja California, México. *Aquaculture Research*. 26: 497-511.

- Napolitano, G. E., R. G. Ackman, 1992. Anatomical distributions and temporal variations of lipid classes in the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin) from Georges Bank (Nova Scotia). *Comparative Biochemistry and Physiology* 103B: 645-650.
- Pazos, A.J., Roman, G., Acosta, C.P., Abad, M., Sanchez, J.L., 1996. Influence of the gametogenic cycle on the biochemical composition of the ovary of the great scallop. *Aquacult. Int.* 4, 201–213.
- Peek, K., P. A. Gabbott, 1990. Seasonal cycle of lysosomal enzyme activities in the mantle tissue isolated cells from the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 104: 403-412.
- Racotta, I. S., J. L. Ramirez, S. Avila, A. M. Ibarra, 1998. Biochemical composition of gonad and muscle in the catarina scallop, *Argopecten ventricosus*, after reproductive conditioning under two feeding systems. *Aquaculture* 163: 111–122
- Racotta, I.S., J.L. Ramírez., A.M. Ibarra., C. Rodríguez-Jaramillo, D. Carreño, E. Palacios. 2003. Growth and gametogenesis in the lion-paw scallop *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*. *Aquaculture* 217: 335-349.
- Rangel D., C, J. Chávez V., 1994. Desarrollo científico y tecnológico de la madreperla y la concha nácar. Secretaría de Pesca. México. 104 p.
- Robinson, W.E., W. E. Wehling, M.P. Morse, G. C. McLeod, 1981. Seasonal Changes in soft-body component indices and energy reserves in the Atlantic Deep-sea Scallop, *Placopecten magellanicus*. *Fishery bulletin.* 79(3): 449-458.
- Román, G., G. Martínez, O. García, L. Freitas, 2001. Reproducción. En: Maeda-Martínez, A. N (editor). Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Limusa. México. 27-59 p.

- Román, G., M. J. Campos, J. Cano, C. P. Acosta, P. Iglesias, O. García, 2002. Reproductive and reserve storage cycles in *Aequipecten opercularis* (L. 1758) in Galicia, NW Spain. *J. Shellfish Res.* 21(2): 577-584.
- Rose, R. A., 1990. A manual for the artificial propagation of the silverlip or goldlip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson) from the Western Australia. Fisheries Department, Western Australia, Marine Research Laboratories, 41 p.
- Rose, R.A., R.E. Dybdahl, S. Harders. 1991. Reproductive cycle of the Western Australian silver-lip pearl oyster *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteriidae). *J. Shellfish Res.* 9: 261-272.
- Sastry, A.N., N.J. Blake, 1971. Regulation of gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamark. *Biol. Bull.* 140: 274-282.
- Sastry, A.N., 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae) en: Giese A.C. and J.S. Pearse (edit.). Reproduction of marine invertebrates. Vol. V Molluscs: Pelecypods and lesser classes. Academic Press. USA. 113-265.
- Saout, C., C. Quèrè, A. Donval, Y. M. Paulet, J. F. Samain, 1999. An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the Bay of Brest (France). *Aquaculture*, 172: 301-314.
- Saucedo, P., M. Monteforte, 1997. Breeding cycle of pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. *J. Shellfish Res.*, 16 (1): 103-110.
- Saucedo, P., 2001. Investigación aplicada al acondicionamiento gonadal y reproducción de la madreperla de Calafia, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) en el

- laboratorio. Tesis Doctoral. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, B.C.S., México. 186 pp.
- Saucedo, P., I. Racotta, H. Bervera, H. Villarreal, M. Monteforte, 2001. Differential gonadal development of grafted and ungrafted specimens of the Calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Bivalvia: Pteriidae). *Invert. Reprod. and Develop.*, 39 (3): 183-193.
- Saucedo, P., I. Racotta, H. Villarreal, M. Monteforte, 2002. Seasonal changes in the histological and biochemical profile of the gonad, digestive gland, and muscle of the calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) associated with gametogenesis. *J. Shellfish Res.* 21(1): 127-135.
- Saucedo, P.E., H. Bervera, M. Monteforte, P. Monsalvo 2005. Factors influencing recruitment of hatchery-reared pearl oyster (*Pinctada mazatlanica*; Hanley, 1856) spat. *J. Shellfish Research* (en prensa).
- Serrano-Guzmán, S, D. Salinas-Ordaz. Cultivo de larvas y producción de semilla se *Pteria sterna* (MOLLUSCA: BIVALVIA) en un criadero comercial. *Rev. Inv. Cient.* 4(1): 81-90.
- Sevilla, M. L., 1969. Contribución al conocimiento de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1845). *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 30: 223-262.
- Sokal, R.R., F.J. Rohlf, 1981. Biometry. 2nd Ed., W.H. Freeman, San Francisco, California.
- Soudant, P., J. Moal, Y. Marty, J.F. Samain, 1996. Impact of the dietary fatty acids on the metabolism and the composition of polar lipid classes in the female gonads of *Pecten maximus* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 205: 149-163.

- Strathmann, M. F., 1987. Reproduction and development of Marine Invertebrates of the Northern Pacific Coast. University of Washington Press. USA. 670 p.
- Thielley, M., P. Cabral. M. Weppe, C. Herbaut, 1989. Etude histologique et citochimique de la gamétogenèse chez la nacre *Pinctada margaritifera* (L.) var. *Cumingii* (Jameson). EVAM. Tech. Rep. 12 p.
- Thompson, R. J., R. I. Newell, V. S. Kennedy, R. Mann. Reproductive Processes and Early Development. pp 335-370. *En: V. S. Kennedy, R. I. Newell, A. Eble* (edts.). The eastern oyster: *Crassostera virginica*. Maryland Sea Grant College. U. S. A.
- Tranter, D.J., 1958a. Reproduction in Australian pearl oyster (Lamellibranchia). I. *Pinctada albina* (Lamarck): Priamry gonad development. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 9: 135-143.
- Tranter, D.J., 1958b. Reproduction in Australian pearl oyster (Lamellibranchia). II. *Pinctada albina* (Lamarck): Gametogenesis. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 9: 144-158.
- Tranter, D.J., 1958c. Reproduction in Australian pearl oyster (Lamellibranchia). III. *Pinctada albina* (Lamarck):Breeding season and sexuality. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 9: 191-216.
- Trider, D.J, J.D. Castell, 1980. Effect of dietary lipids on growth, tissue composition and metabolism of the oyster (*Crassostrea virginica*). *J. Nutr.*, 110: 1303-1309.
- Van Andel, E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Anal. Biochem.*, 11 (2): 256-265.
- Wada, S. K., 1953a. Biology of the silver lip pearl oyster *Pinctada maxima* (Jameson). Artificial fertilization and development. *Margarita* 1: 3-15.

- Wada, S. K., 1953b. Biology of the silver lip pearl oyster *Pinctada maxima* (Jameson).
Breeding season. *Margarita* 1: 17-28.
- Wada, S. K., 1968. Mollusca. 1. Amphineura, Gastropoda, Scaphopoda, Pelecypoda.
Pp. 485-525. *En*: M. Kume, K. Dan (eds.). Invertebrate Embriology.
Nolit Publishing House, Belgrade.
- Zandee, D.I., J.H. Kluytmans , W. Zurburg, 1980. Seasonal variations in biochemical
composition of *Kmytilus edulis*K with reference to the energy
metabolism and gametogenesis. *Neth. J. Sea Res.* 14:1-29.

Anexo 1. Etapas del desarrollo gametogénico de *P. sterna* y *P. mazatlanica*.

Estadio indiferenciado: tanto en individuos machos como hembras, no se observa evidencia de desarrollo gonadal, por lo tanto, no es posible hacer una distinción entre los sexos. El espacio de los acinos vacíos y colapsados es ocupado por tejido conectivo (Fig. 19).

Estadio de desarrollo: los acinos son visibles, y en las hembras los ovocitos dentro de ellos se incrementan en tamaño y número, mientras que en los machos los espermatozoides se van almacenando como una densa masa en el lumen de los acinos, con las caudas empaquetadas en paralelo unas con otras y proyectándose al centro del acino. Conforme aumenta el número de óvulos y espermatozoides maduros, disminuye la cantidad de tejido conectivo. Los ovocitos en desarrollo, que comienzan siendo células semiesféricas fijadas a la pared de los acinos, se van convirtiendo en células piriformes y luego esféricas, de mayor tamaño conforme se aproximan a la maduración. En esta etapa es muy común observar células auxiliares en cúmulos, de función nutricia, ancladas a los ovocitos en diferentes posiciones, ya sea basal, lateral o distal (Fig. 20).

Estadio de madurez: las gónadas de las hembras maduras se caracterizan por la presencia de acinos distendidos llenos de ovocitos maduros con forma poligonal, que generalmente están libres dentro del lumen del acino. En los machos los acinos también se encuentran distendidos y llenos de una masa densa de espermatozoides quedando espermatocitos y espermátidas restringidos a una delgada capa en las paredes de los acinos. Entre las paredes foliculares está presente muy poco o nulo tejido conectivo. Las

células auxiliares decrecen notablemente en número e incluso dejan de ser visibles (Fig. 21).

Estadio de desove parcial: se caracteriza por la expulsión de los gametos maduros y la apariencia vacía o semivacía de los acinos, aunque algunos de éstos se encuentran conteniendo ovocitos y espermatozoides maduros, llamados ahora residuales. Se encuentra poco tejido conectivo y algunas paredes de los acinos están rotas. Poco a poco comienza la invasión de células fagocitarias, cuya función es el reciclaje de los nutrientes de los gametos residuales (Fig. 22).

Estadio de post-desove: los acinos se observan delgados y casi completamente vacíos. Se incrementa notablemente la cantidad de amebocitos, particularmente fagocitos, destruyendo o reabsorbiendo los gametos residuales, por lo que es muy común observar material remanente en el interior de los acinos, producto de la atresia y/o lisis ovocitaria. El tejido conectivo comienza a incrementarse nuevamente y no hay evidencia de ovogénesis o espermatogénesis activa (Fig. 23).

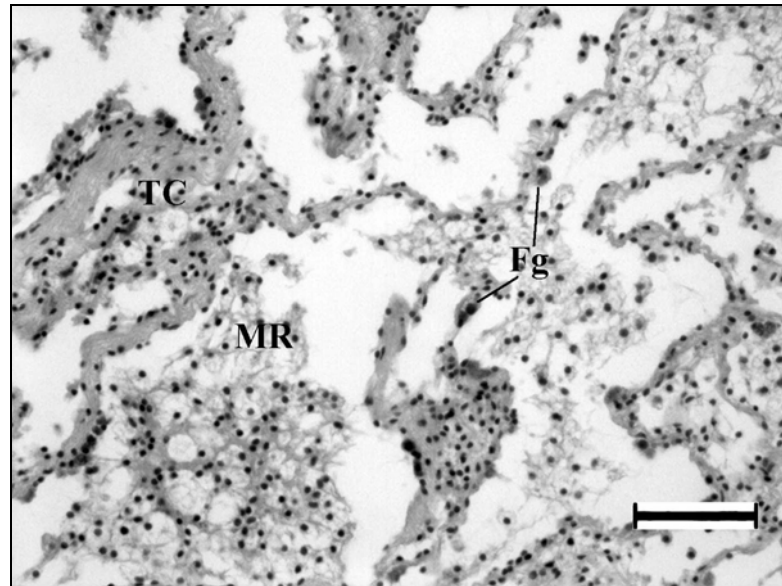


Figura 19. Corte histológico de una gónada de *P. mazatlanica* en estadio de indiferenciación sexual. Fg: fagocitos; TC: Tejido conjuntivo; MR: material remanente. Barra = 50 μ m

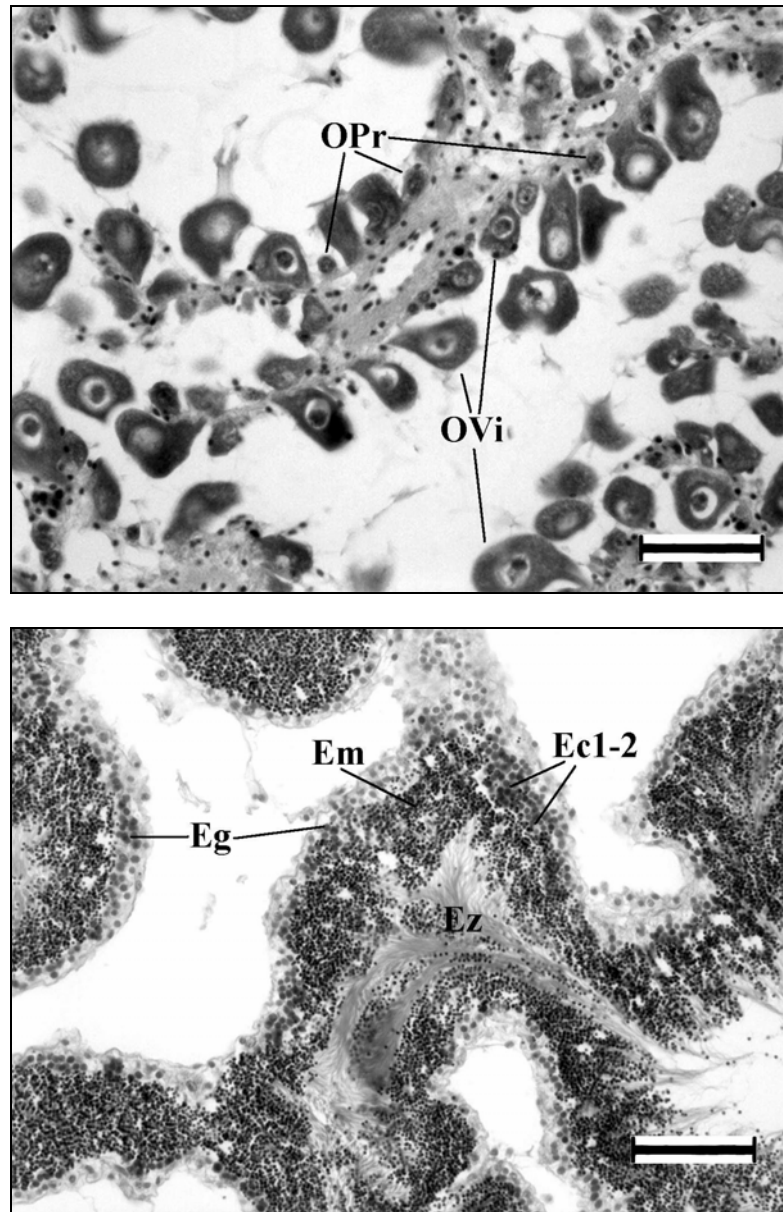


Figura 20. Cortes histológicos de gónada de hembra (arriba) y macho (abajo) de *P. mazatlanica* en estadio de desarrollo. OPr: ovocitos previtelogénicos; OVi: ovocitos vitelogénicos; Eg: Espermatogonias; Ec1-2: espermatocitos de primero y segundo orden; Em: espermátida; Ez: espermatozoides. Barra = 50 µm.

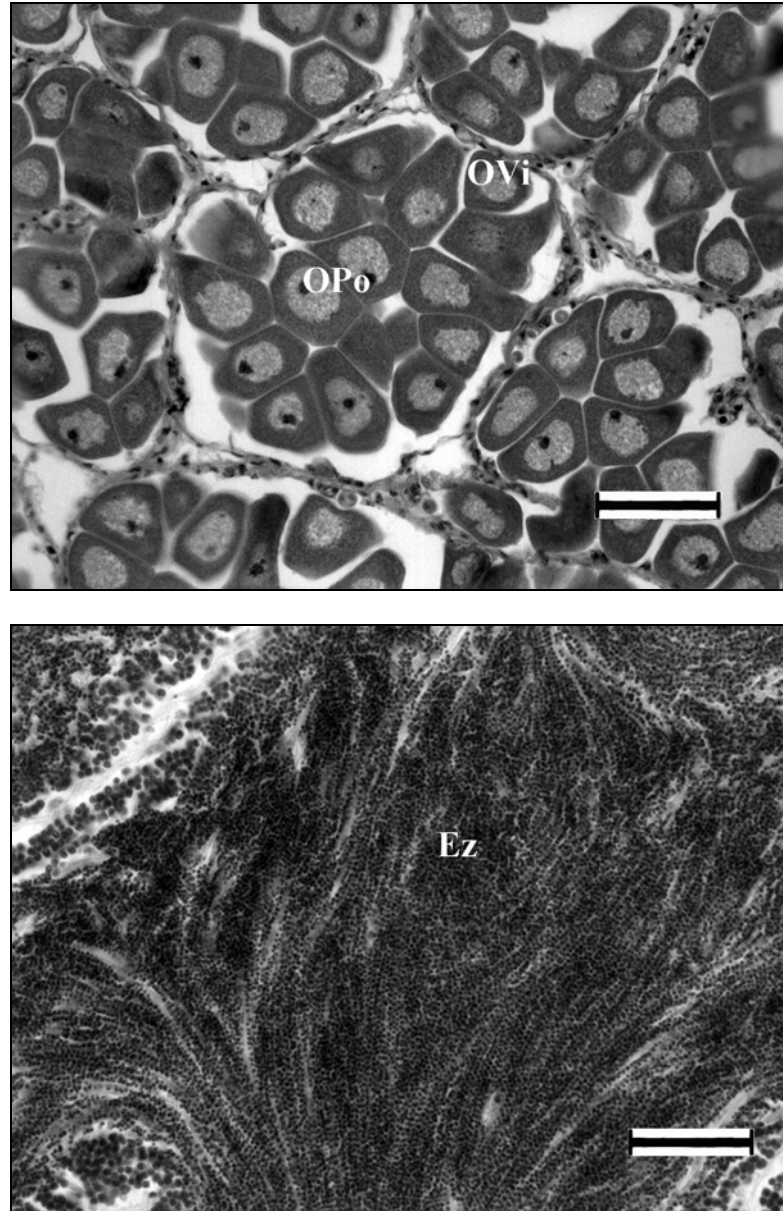


Figura 21. Cortes histológicos de gónada de hembra (izq.) y macho (der.) de *P. sterna* en estadio de madurez. OVi: ovocitos vitelogénicos; OPo: ovocitos posvitelogénicos; Ez: espermatozoides. Barra = 50 µm.

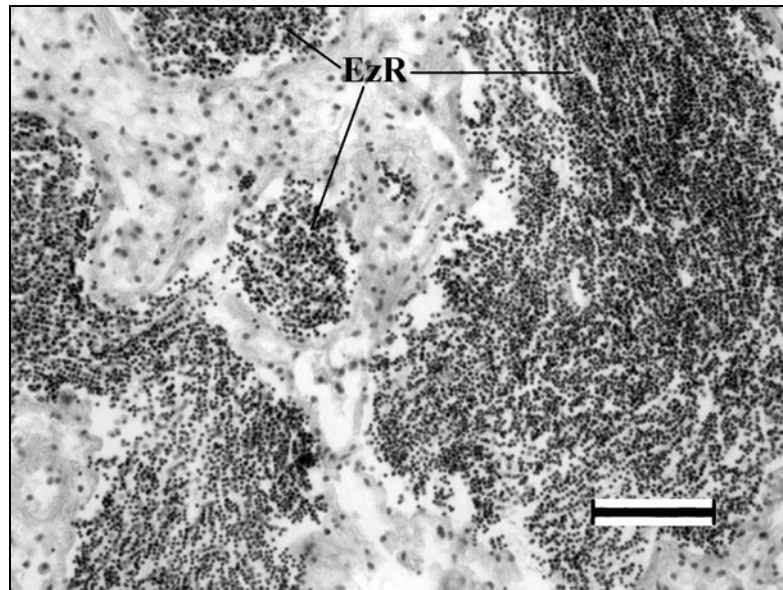


Figura 22. Corte histológico de gónada macho de *P. sterna* en estadio de desove parcial. EzR: espermatozoides residuales. Barra = 50 μ m.

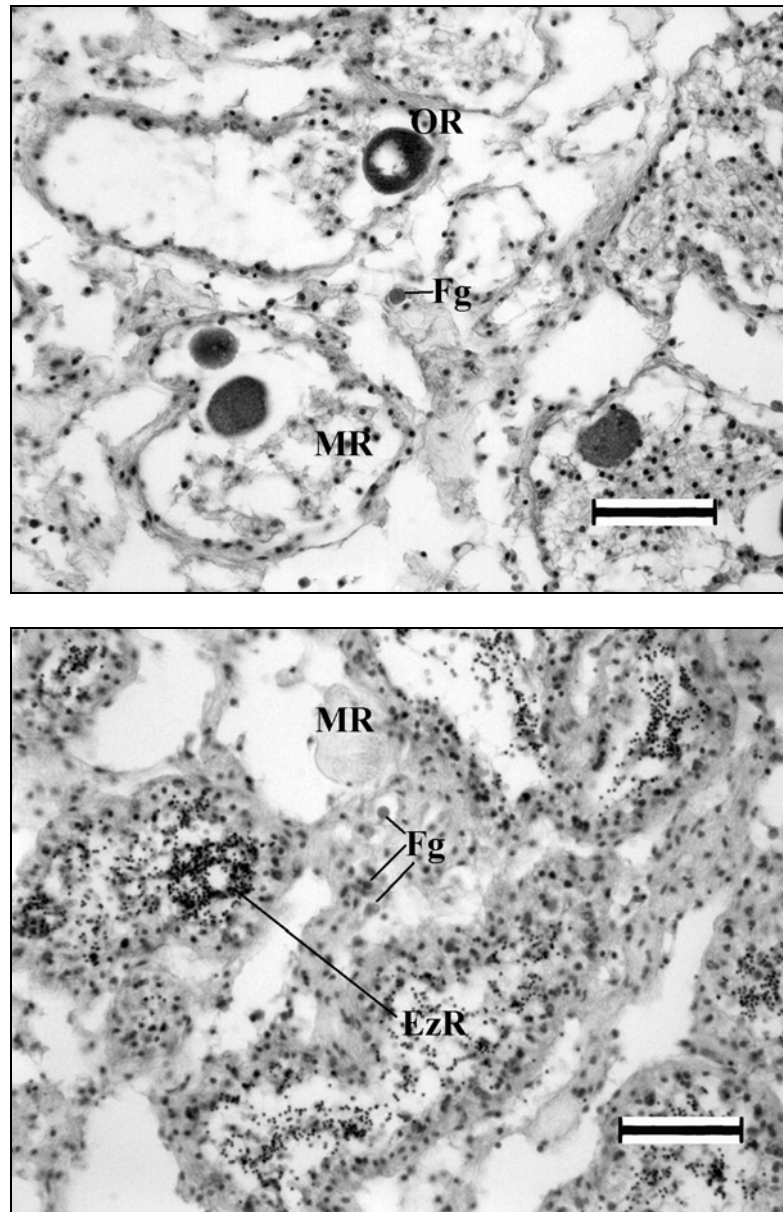


Figura 23. Cortes histológicos de gónada de hembra (izq.) y macho (der.) de *P. sterna* en estadio de post-desove. OR: ovocitos residuales; EzR: espermatozoides residuales; Fg: Fagocitos; MR: Material remanente. Barra = 50 µm.