



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
DEPARTAMENTO DE PESQUERIAS Y BIOLOGIA MARINA



IPN-CICIMAR

CICLO REPRODUCTIVO DE LA OSTRA PERLERA
***Pteria sterna* (Gould, 1851) (MOLLUSCA: PTERIIDAE) EN**
LA LAGUNA OJO DE LIEBRE, B.C.S., MÉXICO

T E S I S

Que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS
Con especialidad en
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Presenta:
BIÓL. MAR. LILIANA HERNÁNDEZ OLALDE

ÍNDICE GENERAL

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABLAS	ii
LISTA DE ANEXOS	ii
GLOSARIO	iii
RESÚMEN	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	5
3. JUSTIFICACIÓN	6
4. OBJETIVOS	7
5. ÁREA DE ESTUDIO	8
6. MATERIAL Y MÉTODOS	10
6.1. Muestras biológicas y físicas	10
6.2. Datos morfométricos y pesos	10
6.3. Índices	11
6.4. Técnica Histológica	12
6.5. Análisis Histológico	12
6.5.1 Proporción de géneros	12
6.5.2 Fases de desarrollo gonádico	13
6.5.3 Ciclo reproductivo	13
6.5.4 Época de reproducción	13
6.5.5 Talla de primera madurez	13
6.5.6 Tamaño promedio mensual de los ovocitos	14
6.5.7 Porcentaje mensual del área folicular en hembras	14
6.6. Determinación de Clorofila a	15
6.7. Análisis estadísticos	16

7. RESULTADOS	18
7.1. Muestras biológicas	18
7.1.1 Organismos de <i>Pteria sterna</i>	18
7.1.2 Temperatura	18
7.2. Indices	19
7.2.1 Índice de condición	19
7.2.2 Índice gonádico	21
7.3. Proporción de géneros	22
7.4. Fases de desarrollo gonádico	24
7.4.1 Hembras	24
7.4.2 Machos	25
7.5. Talla de primera madurez	29
7.5.1 Hembras	29
7.5.2 Machos	30
7.6. Ciclo reproductivo	31
7.6.1 Hembras	31
7.6.2 Machos	32
7.7. Época de reproducción	33
7.8. Promedio mensual del diámetro y área de ovocitos	33
7.8.1 Diámetro de los ovocitos	33
7.8.2 Área de los ovocitos	35
7.9. Porcentaje mensual del área folicular en hembras	37
7.10. Determinación de Clorofila <i>a</i>	38
8. DISCUSIÓN	41
9. CONCLUSIONES	56
10. RECOMENDACIONES	57
11. SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS	58
12. LITERATURA CITADA	59
13. ANEXOS	66

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Concha de la ostra perlera <i>Pteria sterna</i>	1
Figura 2. Área de estudio. * indica la estación de muestreo	9
Figura 3. Se indica el lugar donde se cortó la gónada para su disección y la porción de la gónada de la que se registró su peso	11
Figura 4. Temperaturas registradas en la Laguna Ojo de Liebre	18
Figura 5. Índice de condición de <i>P. sterna</i> y temperatura registrada	20
Figura 6. Grupos homogéneos formados para el Índice de Condición	20
Figura 7. Índice gonádico de <i>P. sterna</i> y temperatura registrada	21
Figura 8. Grupos homogéneos formados para el Índice Gonádico	22
Figura 9. Frecuencia de géneros por clase de talla	23
Figura 10. Estadio reproductivo de <i>P. sterna</i> : Indiferenciado	26
Figura 11. Estadios reproductivos de <i>P. sterna</i> . (A) desarrollo en hembras. (B) desarrollo en machos. (C) madurez en hembras. (D) madurez en machos.	27
Figura 12. Estadios reproductivos de <i>P. sterna</i> . (A) desove en hembras. (B) desove en machos. (C) posdesove en hembras. (D) posdesove en machos.	28
Figura 13. Ciclo reproductivo de <i>P. sterna</i> para hembras	31
Figura 14. Ciclo reproductivo de <i>P. sterna</i> para machos	32
Figura 15. Frecuencia de desove de hembras y machos	33
Figura 16. Diámetro de ovocitos vitelogénicos	34
Figura 17. Frecuencia de los estadios gonádicos desarrollo, maduro y desove, y promedio mensual del diámetro de los ovocitos	34
Figura 18. Cambios estacionales en el diámetro de los ovocitos	35
Figura 19. Área de ovocitos vitelogénicos	36
Figura 20. Cambios estacionales en el área de los ovocitos	36
Figura 21. Área Folicular y temperatura registrada	37
Figura 22. Porcentajes del Área Folicular y desove para <i>P. sterna</i>	37
Figura 23. Cambios estacionales del Porcentaje del Área Folicular	38
Figura 24. Concentración de Clorofila <i>a</i> y temperatura, en la Laguna Ojo de Liebre	39
Figura 25. Concentración de Clorofila <i>a</i> y estadios de desarrollo gonádico	39

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla I. Fases de desarrollo gonádico para <i>Pinctada mazatlanica</i> (García-Domínguez <i>et al.</i> , 1996)	17
Tabla II. Diferencia de temperatura entre los meses de estudio	19
Tabla III. Proporción de géneros por clase de talla	23
Tabla IV. Frecuencias de hembras maduras por clase de talla	29
Tabla V. Frecuencia de machos maduros por clase de talla	30
Tabla VI. Talla, género y estadio de desarrollo de los organismos fijos en la gorgonia <i>Eugorgia sp</i>	70

LISTA DE ANEXOS

	Página
Anexo I. Proceso de inclusión en parafina	66
Anexo I a. Tinción de Hematoxilina-Eosina	67
Anexo I b. Proceso de tinción	68
Anexo II. Metodología para la determinación de Clorofilas	69
Anexo III. Organismos fijos a la gorgonia <i>Eugorgia sp.</i>	70

GLOSARIO

CICLO GAMETOGÉNICO O GONÁDICO. Evento repetitivo dentro de las gónadas que conducen a la formación de gametos. Un ciclo reproductivo normal se mide en tiempo e incluye las siguientes etapas: 1) acumulación de tejidos nutritivos para ser utilizados durante la gametogénesis; 2) proliferación y diferenciación de células sexuales; 3) maduración de gametos maduros; 4) desove y 5) un período de reposo y reabsorción de los gametos residuales.

CICLO GONÁDICO CORTO. Ciclo en donde los organismos pasan directo después del desove y posdesove a desarrollo, sin pasar por el estadio indiferenciado.

CICLO REPRODUCTIVO. Frecuencia de aparición de las diferentes fases de desarrollo gonádico a través del año y que en general es cíclico.

FAGOCITO. Célula ameboide perteneciente al sistema de defensa del organismo, especializada en englobar y digerir cuerpos extraños no reconocidos por el mismo.

FOLÍCULO. Estructuras en forma de sacos, rodeados de tejido conectivo. Sus paredes están formadas por células germinales, que son pequeñas células eosinófilas con un núcleo central, que a medida que maduran forman los gametos masculinos o femeninos (Zúñiga-Pacheco, 1998), por lo que este término suele ser utilizado indistintamente tanto en machos como en hembras.

GAMETOGÉNESIS. Proceso que tiene como resultado la formación de gametos, se inicia con células germinales (ovogonias y espermatogonias).

GÉNERO. Condición orgánica que distingue el macho de la hembra en los organismos heterogaméticos.

GÓNADA. Órgano en el que tiene lugar el desarrollo de gametos masculinos o femeninos. Compuesta por tejido conectivo, folículos, hematocitos y algunas fibras musculares. Cuando la gónada está desarrollada envuelve a la glándula digestiva (Pérez-Estrada, 2000).

GONOCORISMO. Condición de una especie en la que los organismos presentan órganos sexuales de un solo género, macho o hembra.

HEMODE. Marca comercial de un solvente orgánico, que se utiliza como agente aclarante en la técnica histológica.

HERMAFRODITA. Condición que presentan los individuos que presentan simultáneamente gametos masculinos y femeninos.

INCLUSIÓN (en parafina). Técnica histológica mediante la cual un tejido es embebido en parafina, de tal forma que ésta sustituye completamente al agua que poseía anteriormente el tejido. El propósito principal de la inclusión es el de permitir el corte con el microtomo.

ÍNDICE DE CONDICIÓN. Valor numérico utilizado para comparar la condición física de los organismos, con base en la longitud de la concha y en el peso húmedo.

ÍNDICE GONÁDICO. Método cuantitativo más utilizado para estimar la actividad reproductiva de animales de tamaños variables, se usa para comparar el cambio en la gónada con relación al tiempo (Giese y Pearse, 1974); ya que es un valor numérico que expresa el peso de la gónada con relación a la longitud del organismo.

LIPOFUCSINAS. Grupo numeroso de pigmentos granulosos pardo-amarillentos, formados por lipoproteínas, que se acumulan en las células como resultado del proceso de fagocitosis (Lynch *et al.*, 1972).

LUMEN. La cavidad de la parte tubular de un órgano.

OOCITO. Célula sexual femenina en fase de crecimiento y que experimenta la meiosis. Presenta un gran núcleo central basófilo con su nucleolo, su tamaño aumenta conforma van madurando debido a la acumulación de sustancias de reserva.

ORGANISMOS SINCRÓNICOS. Grupo de individuos que pasan de una etapa del ciclo gonádico a otra al mismo tiempo.

PARAPLAST. Marca comercial de un polímero de parafinas de alto peso molecular con plásticos que se utiliza para realizar inclusiones en parafina en la técnica histológica.

PROPORCIÓN SEXUAL. Relación porcentual de hembras y machos en una población.

PROTÁNDRICO. Tipo de hermafroditismo en el que las actividades masculinas y femeninas son sucesivas en el tiempo, y en el que se desarrollan en primer lugar espermatozoides y posteriormente óvulos.

PROTOGÍNIA. Tipo de hermafroditismo en el que las actividades masculinas y femeninas son sucesivas en el tiempo, y en el que se desarrollan en primer lugar óvulos y posteriormente espermatozoides.

REVERSIÓN SEXUAL. Fenómeno mediante el cual un organismo cambia de género por regulación de procesos ecofisiológicos.

SEXO. Proceso mediante el cual se lleva a cabo el intercambio genético para formar un nuevo genotipo.

SOBRE-EXPLOTACIÓN. Extracción deliberada de alguna especie animal o vegetal por arriba del límite impuesto por la tasa de reclutamiento, y que por consecuencia puede poner en riesgo el equilibrio natural de la especie.

TEJIDO CONJUNTIVO Ó CONECTIVO. Tejido que se encuentra dentro y fuera de los folículos, rodeándolo; provee de soporte, transporte de nutrientes y sustrato para la diferenciación del tejido gonádico (Morse y Zardus, 1997): así como de un tipo de células somáticas almacenadoras de nutrientes denominadas células de tejido vesicular conectivo (Saucedo *et al.*, 2002b).

TICOPLANCTON. Fitobentos que se resuspende, permaneciendo un tiempo indefinido en la columna de agua.

TINCIÓN. Proceso histológico que tiene como propósito resaltar ciertas estructuras celulares por medio de la utilización de colorantes naturales o artificiales, y que permiten una clara observación del tejido al microscopio.

TÚBULOS SEMINÍFEROS. Conductos en la gónada masculina donde se lleva a cabo la espermatogénesis; estos conductos convergen en un conducto en común que lleva a los espermatozoides al exterior, también suelen denominarse folículos.

**CICLO REPRODUCTIVO DE LA OSTRA PERLERA
Pteria sterna (Gould, 1851) (MOLLUSCA: PTERIIDAE) EN
LA LAGUNA OJO DE LIEBRE, B.C.S., MÉXICO**

RESUMEN

La ostra perlera *Pteria sterna*, comúnmente llamada concha nácar, es un recurso potencial debido a que su valor económico está dado por su aprovechamiento integral. Esta especie actualmente se encuentra catalogada bajo protección especial y en veda permanente; sin embargo, esto no aplica para actividades de cultivo. De tal forma que, para poder establecer la biotecnología para su cultivo, se requiere de estudios acerca de su biología básica, como son los aspectos sobre su reproducción. Por ello, el presente trabajo tiene como objetivo determinar el ciclo reproductivo de concha nácar y su relación con la temperatura y la concentración de clorofila *a*, en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. Partiendo de que la estacionalidad de estos factores influye en la actividad reproductiva de los moluscos y son los principales parámetros que afectan el desove de los bivalvos marinos. Para cumplir con dicho objetivo, se recolectaron mensualmente, de febrero de 2001 a febrero de 2002, 30 gónadas de concha nácar; en el agua circundante se determinó la concentración de clorofila *a* y se midió la temperatura. Cada gónada fue procesada por medio de la técnica histológica (inclusión en parafina, tinción hematoxilina-eosina) para obtener la frecuencia relativa de las fases de desarrollo gonádico (indiferenciado, desarrollo, madurez, desove y posdesove), y de esta manera determinar el ciclo reproductivo. Para complementar el estudio histológico, se realizó un seguimiento del crecimiento mensual de los ovocitos, del cambio en el porcentaje de área folicular, así como de los índices de condición y gonádico. Se determinó la proporción de géneros con respecto a la talla. Se recolectaron un total de 368 organismos. *P. sterna* presentó un ciclo reproductivo sincrónico, influenciado por la temperatura y la disponibilidad de alimento. Los incrementos en la concentración de clorofila *a* coinciden con organismos en desarrollo y desove. La época de reproducción, de octubre a abril, comenzó cuando la temperatura disminuyó (22.8 °C) y la concentración de clorofila *a* fue mayor (1.02 mg Cl_a/m³). No se observaron organismos hermafroditas. Se presentó protandria, con una reversión de género a una talla de 70 mm aproximadamente. La proporción de géneros, de 1 H : 1 M, no presentó diferencias significativas en las tallas máximas analizadas (101-145 mm).

**REPRODUCTIVE CYCLE OF THE PEARL OYSTER
Pteria sterna (Gould, 1851) (MOLLUSCA:PTERIIDAE) AT
LAGUNA OJO DE LIEBRE, B.C.S., MÉXICO**

ABSTRACT

The pearl oyster *Pteria sterna*, locally known as “concha nácar”, is a potential resource because its economic value is given by the integral use. Nowadays this species is cataloged under special protection and in permanent interdiction. Nevertheless, this does not apply for aquaculture activities. Therefore, to establish the biotechnology for its culture studies about their basic biology are required, as are the aspects of reproduction. The general goal of this work was to determine the reproductive cycle of “concha nácar”, and its relation to temperature and chlorophyll *a* concentration at Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. Because the seasonality of these factors influence the reproductive activity of mollusks, and are the main parameters affecting the spawning of marine bivalves. In order to fulfill the objective, from February 2001 to February 2002, 30 gonads of “concha nácar” were collected monthly; in the surrounding water the chlorophyll *a* concentration and the temperature were measured. Each gonad was processed by means of the histological technique (paraffin inclusion, Hematoxylin-Eosin stain) to obtain the relative frequency of gonad developmental phases (indifferentiated, development, maturity, spawning and post-spawning), and in this way determine the reproductive cycle. In order to complement the histological study, the monthly growth of oocytes, the change in follicular area percentage, as well as the condition and gonadic indexes were followed. The sex ratio was determined by size class. A total of 368 organisms was collected. *P. sterna* presented a synchronous reproductive cycle, influenced by temperature and food availability. Increases in chlorophyll *a* concentration coincide with organisms at developing and spawning stages. Spawning season, from October to April, started when temperature diminished (22.8 °C), and chlorophyll *a* concentration was higher (1.02 mg Cl_a/m³). Hermaphroditic organisms were not observed. There was protandry, with a sex reversion at approximately 70 mm size. The sex ratio, of 1 H: 1 M, did not present significant differences in the analyzed maximum sizes (101-145 mm).

1. INTRODUCCIÓN

La ostra perlera *Pteria sterna* (Gould, 1851), comúnmente llamada concha nácar, pertenece al Phylum Mollusca, Clase Bivalvia, Subclase Lamellibranchia (Brusca y Brusca, 1990). Se distribuye desde la Laguna Carlsbad, localizada al norte de San Diego, California (Trego, 1999); la costa Oceánica de la Península de Baja California, incluyendo la Laguna Ojo de Liebre (Ortega y Castellanos, 1995); en el Golfo de California (Keen, 1971), desde las Islas Tiburón y Angel de la Guarda al Norte (Rangel y Chávez, 1994), y al Sur hasta Perú (Poutiers, 1995). Habita desde la zona entre mareas hasta 35 m de profundidad, preferentemente sobre fondos rocosos (Houston, 1980; Rangel y Chávez, 1994). Aunque es una especie abundante, ha sido diezmada en el Golfo de California por pescadores de perlas (Poutiers, 1995). Su concha es ovalada, de color café por fuera y nacarada por dentro, posee una extensión en la charnela en forma de ala, la cual es más larga en la parte anterior, característica que le da el nombre a la especie (*pterion*, en griego significa ala); presenta una longitud máxima registrada de 120 mm (Saucedo-Lastra, 1995) (Figura 1).



Figura 1. Concha de la ostra perlera *Pteria sterna*.

Pteria sterna es un organismo filtrador no selectivo, se alimenta de fitoplancton, ticoplancton, microorganismos y materia orgánica en suspensión. Se han observado ejemplares maduros desde los 8-11 mm de altura de la concha (Arizmendi-Castillo, 1996). La gónada se encuentra en la región ventral del músculo aductor; presenta géneros separados y aun cuando está madura es difícil diferenciar a simple vista si es macho o hembra, debido a que el color que se presenta es beige en ambos casos. Cuando dicha gónada esta madura no se alcanza a observar la glándula digestiva, ya que aquélla la envuelve, extendiéndose y rodeando parte del músculo retractor (Pérez-Estrada, 2000), debido a esto se caracteriza como una gónada "difusa", tal y como sucede en *Pinctada mazatlanica* (Saucedo *et al.*, 2002b).

Se han observado ejemplares hermafroditas, por lo que la especie se ha considerado como hermafrodita asincrónico, es decir, puede madurar inicialmente de modo indistinto, como macho o hembra (Díaz y Bückle, 1996).

La reproducción en invertebrados marinos es generalmente controlada por la combinación de factores endógenos (neurosecreción) y factores exógenos, como la temperatura, disponibilidad de alimento, salinidad, fotoperíodo (Rose *et al.*, 1990), por lo que dichos factores conllevan a una coordinación de la madurez gonadal de los individuos de una población. De tal forma, que los ciclos reproductivos de diferentes especies de bivalvos son únicos para cada población, variando de acuerdo a la localización geográfica (Sastry, 1979). Para las especies de fertilización externa, como es el caso de la concha nácar, la liberación de gametos al ambiente resulta un evento crítico, ya que la fertilización se lleva a cabo en la columna de agua y los gametos son usualmente viables por un corto tiempo, por lo que se requiere una alta concentración de los mismos para asegurar el encuentro entre ovocitos y espermatozoides. De tal forma que la reproducción depende de una cierta sincronía en la liberación de los gametos (desove). Una vez que los organismos están maduros reproductivamente, la sincronía del desove en la población está generalmente determinada por una respuesta a cambios particulares en el ambiente, como pueden ser: temperatura, salinidad, fotoperíodo o abundancia de fitoplancton (Arsenault y Himmelman, 1998).

En el desarrollo gonádico, inicialmente los folículos se componen de una capa simple de epitelio germinal y de un lumen. Las células epiteliales difieren en gonias y formas de lumen que crecen en el tejido conectivo. Le sigue un crecimiento y diferenciación de dichas células en las paredes de los folículos y túbulos seminíferos, lo cual provoca su expansión o crecimiento (Eversole, 2001). El ciclo gametogénico se puede estudiar de una forma cualitativa, es decir, de acuerdo a la morfología de las células observadas en preparaciones histológicas, de secciones de la gónada (Baron y Ciocco, 2001). La categorización del desarrollo reproductivo tiene como base una serie de estadios subjetivos, los cuales parten de un estado de reposo o recuperación después del desove, el cual es seguido por una serie de estadios de desarrollo activo, madurez, desove y nuevamente reposo (Eversole, 2001).

El proceso de gametogénesis produce un incremento en el tamaño de la gónada y el desove o liberación de gametos provoca el efecto contrario. De tal forma que los métodos cuantitativos pueden ser utilizados como datos complementarios para estimar la maduración gonádica. Para ello se deben realizar medidas particulares de secciones de la gónada; es decir, medir directamente el área ocupada por la gónada, ya que este es un indicador del progreso de la gametogénesis en los bivalvos. Las técnicas planimétricas también son utilizadas para estimar el área del lumen y describir el ciclo gametogénico. El desarrollo de técnicas para analizar imágenes digitales, ha facilitado dichos estudios para establecer la condición reproductiva en menor tiempo y con mayor precisión. Las medidas rutinarias incluyen área de la gónada (porcentaje ocupado por la gónada) (Morales-Alamo y Mann, 1989), área de los gametos (porcentaje total del área ocupada en los folículos por los oocitos y espermatozoides), área folicular (porcentaje del área folicular ocupada en la gónada) (Baron y Ciocco, 2001), número de oocitos (en total o por folículo) y promedio del diámetro de ovocitos con núcleo. Se ha observado una fuerte correlación entre los métodos cuantitativos y los métodos cualitativos (Eversole, 2001).

Las ostras perleras *P. sterna* y *Pinctada mazatlanica* (Madreperla) son un recurso potencial de gran importancia para México, ya que los productos que se pueden obtener son: perlas, medias perlas, conchas, cremas (cosmetología), artesanías, músculo aductor (para consumo humano) y el resto del organismo puede ser utilizado para la producción de harinas.

Las zonas perleras del Golfo de California hacia fines del siglo XIX, comenzaron a manifestar un notable agotamiento, debido a que la obtención de perlas se basó en la extracción de organismos adultos del medio, lo cual llevó a una sobreexplotación de las poblaciones naturales. En 1939, el Gobierno Mexicano estableció la veda total y permanente del recurso, en lo que corresponde a la pesca, con el fin de evitar su extinción; pero no se aplica en el cultivo, ya que se trata de una actividad que promoverá el repoblamiento (Diario Oficial de la Federación, 1939); además, las ostras perleras son especies sujetas a protección especial según la Norma Oficial Mexicana: NOM-059-ECOL-1994, publicada en el Diario Oficial de la Federación, el 6 de mayo de 1994.

Debido a la sobreexplotación, se recomienda la aplicación de técnicas de cultivo tendientes a su rehabilitación (Sevilla, 1969; Monteforte, 1990; Rangel y Chávez, 1994), para lo cual es indispensable el estudio de su biología. En este caso, los estudios de reproducción, tienen una aplicación directa en actividades de cultivo y en el manejo de poblaciones naturales (Avellanal *et al.*, 2002).

2. ANTECEDENTES

Los estudios enfocados en la biología reproductiva de la familia Pteriidae, se han concentrado en el género *Pinctada*. Dichos estudios revelan que varios aspectos del ciclo reproductivo son comunes en todas las especies. También se ha observado un hermafroditismo protándrico funcional (maduran como machos y cambian a hembras a cierta talla, proceso regulado interna y externamente), por lo que la proporción de géneros de 1H : 1M, se presenta desde tallas intermedias (Tranter, 1958a,b,c y d; Tranter, 1959; Sevilla, 1969; García-Domínguez *et al.*, 1996; Saucedo y Monterforte, 1997).

Se han efectuado estudios sobre la reproducción de *Pteria sterna*, en diferentes localidades en el Golfo de California, enfocados principalmente en organismos en cultivo.

Díaz y Bückle (1996), estudian el ciclo reproductivo en Bahía de Los Angeles, en organismos de 2 a 14 meses de edad. Determinando un ciclo reproductivo asincrónico con dos épocas de desove, una en diciembre-febrero y otra en agosto (14 °C y 20 °C, respectivamente); así como una proporción de géneros de 1.19 H : 1M.

Arizmendi-Castillo (1996) señala, para el área de Guaymas, Son., una temporada de desove de octubre a abril, con dos épocas claramente marcadas, octubre-diciembre y abril, con temperaturas de 16.6 °C a 28 °C. Dicho ciclo lo determina tanto para organismos de cultivo como silvestres, encontrando diferencias en la proporción de géneros, 0.45H : 1M y 1.4 H : 1M respectivamente; en el primer caso los organismos tuvieron tallas menores que los del medio.

Saucedo y Monteforte (1997), estudian el ciclo en organismos de cultivo, en El Merito, Bahía de La Paz, estableciendo un ciclo asincrónico, con dos épocas de desove, febrero y mayo, con temperaturas de 22 °C y 23 °C respectivamente, y una proporción de géneros de 0.38 H : 1 M, las tallas de los organismos estudiados (41.1 mm a 90 mm) se consideran medianas. Indican que puede ocurrir una reversión del género en organismos de tallas mayores de 55 mm, aunque no hubo evidencias suficientes para concluir que esta población sea hermafrodita protándrica.

3. JUSTIFICACIÓN

En la Península de Baja California la ostra perlera *P. sterna*, ha presentado un valor tanto social como económico, por lo que resulta necesario establecer estrategias para su conservación, cultivo y repoblamiento (Saucedo y Monteforte, 1997). Para lograr lo anterior es necesario el estudio de su biología, ya que los datos biológicos de las especies de importancia comercial son fundamentales para recomendar propuestas reglamentarias con el fin de tener un manejo sustentable del recurso. La legislación pesquera en nuestro país establece que para el otorgamiento de permisos es necesario que todo recurso bentónico sea evaluado previamente (Baqueiro *et al.*, 1992).

Debido al decline de las poblaciones de ostras perleras a través de los años, ocasionado por la pesca excesiva, se requiere de más información acerca de su reproducción y supervivencia. El conocimiento del ciclo reproductivo tiene los siguientes objetivos: determinar si para la especie ocurre un ciclo anual; obtener una medida cuantitativa del ciclo; investigar con qué factor o factores se correlaciona, así como tratar de regularlo, a través de la variación experimental del factor o factores involucrados (Baqueiro *et al.*, 1992). Información que puede ser aplicada en acuicultura, como la temporada de captación de semilla de origen silvestre. Además, con el conocimiento del ciclo reproductivo y de los factores ambientales que influyen en el, se puede lograr el acondicionamiento gonádico en laboratorio (Jefferis *et al.*, 2002); conocer el mejor momento durante el ciclo para la inserción de núcleos esféricos en la producción de perlas, debido a que aquella se debe realizar en la gónada justo cuando se encuentra vacía (Arizmendi-Castillo, 1996). También este conocimiento puede ser aplicado en programas de repoblamiento principalmente de bancos sobreexplotados (Brown *et al.*, 2002), ya que a pesar de ser una especie en veda permanente y decretada bajo protección especial, la extracción ilegal continúa impidiendo la recuperación de los bancos naturales de ostras perleras (Saucedo y Monteforte, 1997). De tal forma que el objetivo del presente trabajo es el de conocer el ciclo reproductivo de *Pteria sterna*, en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y su relación con la temperatura y con la disponibilidad de alimento.

4. OBJETIVO GENERAL

Conocer el ciclo reproductivo de la ostra perlera *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca: Pteriidae), en la Laguna Ojo de Liebre, B. C. S., México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ◆ Determinar los índices de condición y gonádico de *Pteria sterna*.
- ◆ Determinar la proporción de géneros y su relación con la talla.
- ◆ Describir las fases de desarrollo gonádico de hembras y machos.
- ◆ Establecer la época de reproducción de la población.
- ◆ Determinar la talla de primera madurez.
- ◆ Estimar el crecimiento promedio mensual de los ovocitos.
- ◆ Estimar el porcentaje mensual del área alveolar en hembras.
- ◆ Establecer la relación de la temperatura y concentración de Clorofila *a*, con el ciclo reproductivo.

5. ÁREA DE ESTUDIO

La Laguna Ojo de Liebre, está situada entre 113° 50' y 114° 20' W, y 27° 35' y 28° 00' N. Forma parte del Complejo Lagunar de Guerrero Negro, B.C.S., en la costa del Pacífico adyacente a la Bahía de Sebastián Vizcaíno. Tiene una superficie de 366 km² y las profundidades máximas son de casi 25 m (Figura 2). Presenta una alta producción orgánica (47.2 mgC/m³) relacionada con la intensa actividad de surgencias en el mar abierto adyacente. La materia orgánica es transportada hacia la laguna por las corrientes. El intervalo de concentración de Clorofila *a*, en primavera es de 0.0 a 1.20 mg/m³. El flujo interior se encuentra regulado por las mareas, pues el único aporte dulceacuícola es estacional y muy reducido. La temperatura y salinidad promedio máximas ocurren en verano (25.5 °C y 39 ‰), mientras que los mínimos suceden en invierno (18 °C y 35 ‰). Ambas variables aumentan de la boca hacia el interior de la laguna de 15 °C a 25 °C y de 32 ‰ a 41 ‰. Dentro de la laguna se presentan tres tipos de sustrato diferentes: rocoso, arenoso-fino y lodoso, en los que el gradiente de energía del oleaje se presenta en forma descendiente (Sarur-Zanatta *et al.*, 1984; Millán-Núñez *et al.*, 1987; De La Cruz-Agüero *et al.*, 1996).

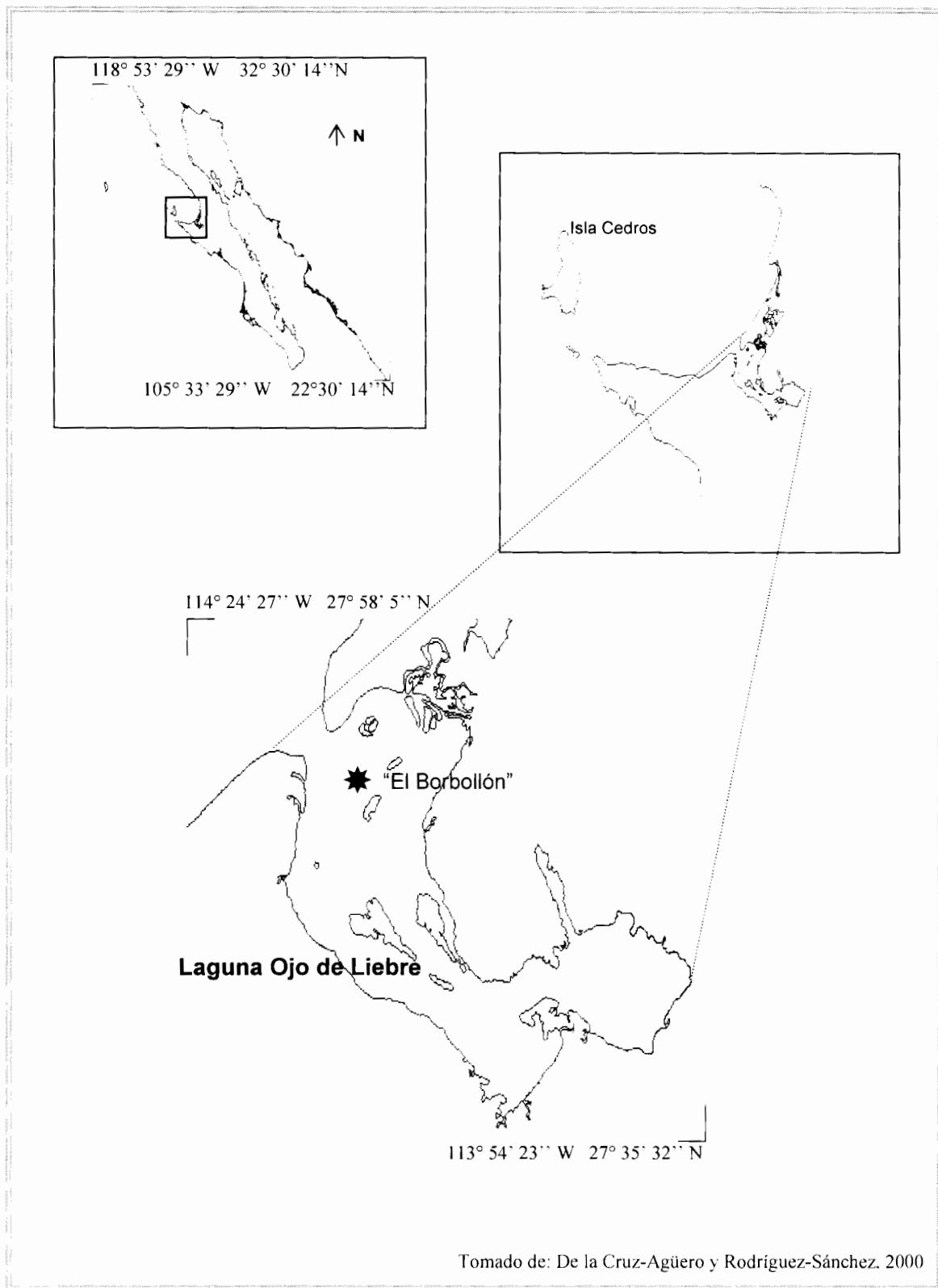


Figura 2. Área de estudio. * indica la estación de muestreo

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Muestras biológicas y físicas

Generalmente, los estudios de reproducción de invertebrados, se basan en una recolecta regular de organismos y de la toma simultánea de variables ambientales, como la temperatura, concentración de nutrientes, etc. Por otra parte los animales recolectados deben ser medidos y pesados, se debe disectar la gónada, pesarla y cortarla en secciones muy delgadas para su posterior análisis microscópico (Grant y Tyler, 1983a). De tal forma que para realizar el presente estudio se recolectaron 30 organismos de *Pteria sterna* por mes, del banco reproductor localizado en "El Borbollón", dentro de la Laguna Ojo de Liebre, el cual se localiza cerca de la boca de la laguna (Figura 2) y presenta un sustrato rocoso con una profundidad promedio de 6 m. Dicha recolecta se realizó de febrero del 2001 a febrero de 2002, por medio de buceo autónomo. Los organismos se fijaron durante 48 horas en formol al 10%, preparado con agua de mar. En la misma estación "El Borbollón", de enero del 2001 a enero del 2002, se realizó un muestreo mensual de 5 L de agua del fondo, utilizando una botella Niskin, con el fin de determinar la biomasa fitoplanctónica por medio de la concentración de Clorofila *a* (mg Cl *a*/m³). Simultáneamente se tomó la temperatura del agua de fondo, utilizando un termómetro de cubeta graduado de -10°C a 150 °C, con una precisión de ±0.1 °C.

6.2 Datos morfométricos y pesos

Los datos morfométricos que se tomaron de cada organismo recolectado fueron los siguientes:

- Medidas en milímetros, utilizando un calibre: altura (medida dorso-ventral), longitud máxima (medida antero-posterior) y ancho (distancia intervalvar).

- Con la ayuda de una balanza electrónica se tomaron los siguientes pesos: total del organismo y húmedo (sin concha ni biso). Para estimar el peso de la gónada, se tomó en cuenta que se trata de un órgano difuso por lo que se realizó de manera constante un corte con la ayuda de un bisturí, a la altura de la glándula digestiva (Figura 3), por lo cual se pesó únicamente la porción del cuerpo que contiene la mayor parte de la gónada, sin descartar que otros tejidos estuvieran incluidos. Aunque este proceso presenta un cierto error, se asume que es constante y proporciona una tendencia del desarrollo gonádico.

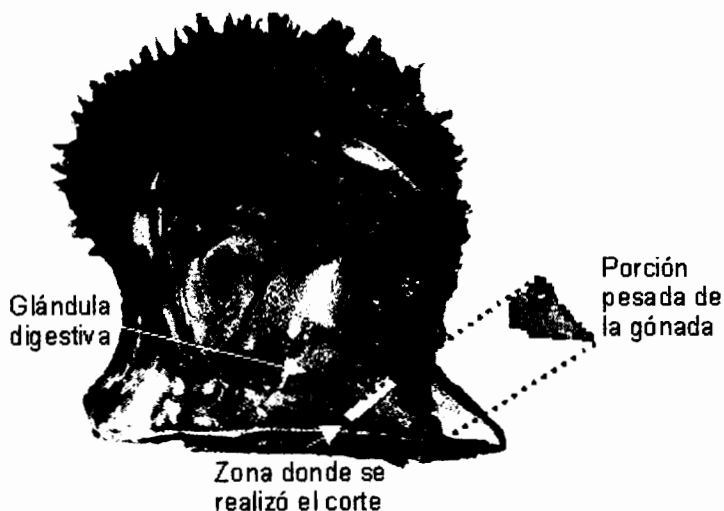


Figura 3. Se indica el lugar donde se cortó la gónada para su disección y la porción de la gónada de la que se registró el peso.

6.3 Índices

Dicho estudio se complementó con métodos cuantitativos como son el índice de condición, que se calculó con la siguiente fórmula (Arizmendi-Castillo, 1996):

$$IC = \frac{\text{peso húmedo} * 10000}{(\text{altura} * \text{longitud} * \text{anchura})}$$

Como un indicador de la actividad reproductiva se calculó el índice gonádico, el cual se obtiene de la relación del peso de la gónada con el peso total del animal, multiplicado por 100, lo cual lo convierte en un porcentaje (Grant y Tyler, 1983a):

$$IG = \frac{\text{peso gónada} * 100}{\text{peso húmedo}}$$

En ambos índices, se calculó mensualmente, la media (M) y la desviación estándar (S), datos que fueron graficados junto con la temperatura registrada. Posteriormente, se realizaron los análisis estadísticos correspondientes descritos en el apartado 6.7.

6.4 Técnica Histológica

Para el estudio histológico se obtuvieron, de cada organismo, secciones del tejido que incluyeran la gónada que se colocaron en "cassettes" de plástico rotulados. Se realizó la técnica de inclusión en parafina, para la cual se utilizó alcohol etílico, en diferentes concentraciones con el fin de deshidratar los tejidos; posteriormente se transparentaron con "Hemode" y se incluyeron en parafina "Paraplast". Se realizaron cortes de cada gónada de 7 micrómetros de grosor, se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (Humason, 1979), y finalmente, se montaron con resina sintética (Anexo I).

6.5 Análisis Histológicos

6.5.1 Proporción de géneros

El género de cada organismo se determinó por observación microscópica de la gónada.

La proporción de géneros se determinó dividiendo el número total de machos entre el número total de hembras; para relacionar dicha proporción con la altura de los organismos, se establecieron intervalos de talla por medio de la regla de Sturges (Daniel, 1994).

Con el fin de establecer si presentaban una proporción de géneros de 1H:1M, en cada intervalo de talla, se realizaron pruebas de hipótesis mediante el estadístico χ^2 , partiendo de una distribución muestral normal y con la hipótesis nula de que la proporción es 1H:1M:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Donde, O es la proporción de hembras o machos observada y E es la proporción de hembras o machos esperada. La regla de decisión se realizó con una confianza del 95 %, rechazando la hipótesis nula cuando el valor de χ^2 calculado fuera mayor de 3.86 (Sokal y Rohlf, 1979).

6.5.2 Fases de desarrollo gonádico

Las preparaciones histológicas, se observaron al microscopio, para determinar las fases de desarrollo gonádico, tanto en hembras como en machos, tomando como base la descripción de cinco fases establecidas por García-Domínguez *et al.* (1996) para la ostra perlera *Pinctada mazatlanica*, las cuales son: indiferenciado, desarrollo, maduro, desove y posdesove (Tabla I).

6.5.3 Ciclo reproductivo

Con el fin de determinar el ciclo reproductivo, se obtuvo la frecuencia relativa mensual de las diferentes fases de desarrollo gonádico presentes, tanto en hembras como en machos.

6.5.4 Época de reproducción

Se estableció como el período en el cual se presentan organismos en desove, tanto hembras como machos.

6.5.5 Talla de primera madurez

Se estableció como talla de primera madurez aquella en la cual el 50 % de los organismos se encuentra reclutado a la reproducción, es decir los que presentaron estadios gonádicos de madurez, desove y posdesove. Se obtuvo la frecuencia de dichos estadios reproductivos de hembras y machos por separado. Se calculó la frecuencia relativa y la frecuencia relativa acumulada y, a partir de esta última, el intervalo de talla que presenta el 50 % de los organismos, se estableció como la talla de primera madurez.

6.5.6 Tamaño promedio mensual de los ovocitos

El análisis del tamaño de los ovocitos, soporta y facilita la interpretación del ciclo reproductivo, tomando como base que conforme avanza el desarrollo de los ovocitos su tamaño aumenta (Gaspar-Soria *et al.*, 2002).

Se determinó el diámetro y el área promedio de 100 ovocitos de siete hembras elegidas al azar por mes, en estadios gonádicos de desarrollo, madurez y desove; el estadio de posdesove no se tomó en cuenta para este análisis debido a la extensa fagocitosis y a los pocos ovocitos medibles que se presentan. Por medio de la digitalización de imágenes de las preparaciones histológicas con la ayuda del programa Sigma Scan Pro (versión 5.0.), se midieron únicamente los ovocitos que presentaban visible el núcleo y nucleolo, con el fin de no subestimar o sobrestimar su tamaño (Grant y Tyler, 1983a y b).

Con los datos obtenidos, tanto de área como de diámetro, se calculó la media (M) y la desviación estándar (S) de cada mes. Dichos datos se graficaron junto con la temperatura registrada y el diámetro con la frecuencia de los estadios gonádicos desarrollo, madurez y desove. Se realizaron los estadísticos correspondientes descritos en el apartado 6.7.

6.5.7 Porcentaje mensual del área folicular en hembras

Las medidas realizadas en la gónada, son un método cuantitativo, que se utiliza para estimar la cantidad de material gonádico producido por los moluscos bivalvos, en los que no puede medirse o pesarse directamente su gónada, ya que esta es difusa; partiendo de que la gametogénesis es uniforme a lo largo de toda la gónada, lo cual no interfiere con el objetivo de establecer un ciclo estacional o la incidencia de desove (Morales-Alamo y Mann, 1989).

El porcentaje del área folicular, es un índice que refleja el área relativa ocupada por los folículos (área intra-alveolar) con respecto al área total de la gónada (órgano somático) (máxima área disponible para el desarrollo gonádico) presente en las preparaciones histológicas. Para ello, se midió el área que ocupaban los folículos (área intra-folicular) de cada hembra y el área total de gónada presente en las preparaciones histológicas. Estas mediciones se realizaron con el programa

Sigma Scan Pro versión 5.0. Con los datos obtenidos, se calculó el Porcentaje del Área Folicular (PAF) (Baron y Ciocco, 2001):

$$\text{PAF} = \frac{(\text{área intra-folicular} * 100)}{\text{área total}}$$

Donde, el área total, se refiere a la suma del área interfolicular, más al área intrafolicular.

Se calculó la media (M) del porcentaje del área folicular y la desviación estándar (S) de cada mes, se procedió a graficar dichos datos junto con la temperatura registrada y la frecuencia de organismos en estadio de desove. Se realizaron los estadísticos correspondientes descritos en el apartado 6.7.

6.6 Determinación de Clorofila a

Cada muestra de agua recolectada, se pasó por un filtro con una luz de malla de 200 μm , con el fin de eliminar del análisis el zooplancton y las partículas inorgánicas; posteriormente, se filtró un litro (con dos repeticiones) utilizando filtros Milipore GF/C de 47 mm de diámetro. Cada filtro, debidamente etiquetado, fue congelado y mantenido en oscuridad. Una vez en el laboratorio se procedió a la extracción de la clorofila utilizando acetona al 90% durante 24 horas, en frío y en condiciones de oscuridad. Después, cada muestra se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos. Se midieron las absorbancias (750 nm, 665 nm, 645 nm y 630 nm) del sobrenadante con un espectrofotómetro (Anexo II). Una vez obtenidas las lecturas, la concentración de clorofila a (mg Cl a/m^3), presente en cada muestra se calculó por medio de las siguientes fórmulas (Parsons *et al.*, 1984):

$$\text{Ca} = 11.85_{(665)} - 1.54_{(645)} - 0.08_{(630)}$$

$$\text{mg/m}^3 \text{ Cl a} = \frac{\text{Ca} * v_{\text{ór}}}{V * l}$$

Donde, $v_{\text{ór}}$, es el volumen de la acetona y V, es el volumen de la muestra filtrada.

El promedio mensual de la concentración de clorofila *a*, a lo largo del período de muestreo, se muestra gráficamente junto con los valores de temperatura registrada, así como con la frecuencia mensual de organismos en desove. Se realizó un análisis de regresión simple para evaluar las relaciones entre los porcentajes de madurez, desove y la variabilidad de la temperatura del agua con la concentración de clorofila *a*.

6.7 Análisis estadísticos

Antes de realizar los análisis estadísticos correspondientes a datos que fueran presentados en porcentaje (Porcentaje de área folicular; índice de condición e índice gonádico, frecuencia de los estadios), se procedió a aplicar la siguiente transformación (Sokal y Rohlf, 1979):

$$\text{Arcos } P$$

donde:
$$P = X \div 100$$

X es el valor obtenido del análisis correspondiente

Los análisis estadísticos que se realizaron corresponden al índice de condición, índice gonádico, proporción de géneros, tamaño promedio de los ovocitos (diámetro y área) y porcentaje del área folicular.

De manera mensual, para cada tratamiento se determinó la normalidad y homocedasticidad. Posteriormente, cada tratamiento fue comparado por sus medias con un ANOVA simple, utilizando el paquete de computadora Statistica ver.6.0 (excepto para la proporción de géneros), con el fin de determinar si se presenta una estacionalidad en la especie; cuando dicho análisis indicó diferencias significativas, se realizó una prueba de comparación múltiple (Tukey) y un análisis de grupos homogéneos (Tukey).

Por otro lado, con el fin de determinar si existe una relación entre tratamientos y entre la temperatura registrada, se realizó un análisis de regresión simple utilizando el paquete de computadora Statistica ver.6.0.

Para todos los análisis el nivel de significancia empleado fue de $\alpha = 0.05$.

Tabla I. Fases de desarrollo gonádico para *Pinctada mazatlanica* (García-Domínguez *et al.*, 1996).

Estadio 0: Indiferenciado	
Sin evidencia de desarrollo gonádico. No es posible distinguir el género. Los folículos se encuentran colapsados y el tejido conectivo ocupa todos los espacios entre los folículos vacíos. Presencia de fagocitos.	
Estadio 1: Desarrollo	
MACHOS	HEMBRAS
Los folículos se presentan en diferentes estadios de desarrollo, localizados entre el tejido conectivo. Dentro de los folículos se encuentra una cantidad variable de células germinales, como espermatocitos 1 y 2, los cuales proliferan rápidamente, así como gametos maduros. Los espermatozoides se encuentran depositados en una densa masa en el lumen de los folículos. El área de tejido conectivo entre los folículos decrece, ya que los folículos incrementan su área como resultado la acumulación de esperma.	Los folículos son visibles y dentro de estos los oocitos incrementan en tamaño y número, los cuales se encuentran libres en el lumen. La cantidad de tejido conectivo disminuye. El desarrollo de los oocitos comienza con células hemisféricas, pegadas a las paredes de los folículos. Después se presentan células esféricas más grandes (52 μm de diámetro, en promedio).
Estadio 2: Madurez	
Los folículos se encuentran distendidos, ocupados por densos mazos de espermatozoides. Los espermatocitos y espermatidas se encuentran restringidos en una gruesa capa sobre las paredes foliculares. Casi todo el tejido conectivo presente entre los folículos es reemplazado por folículos llenos de espermatozoides.	La madurez ovárica se caracteriza por la presencia de folículos distendidos y llenos de oocitos maduros de forma poligonal, algunos de los cuales se encuentran adheridos a las paredes foliculares por pedúnculos delgados. De poca a ninguna cantidad de tejido conectivo se encuentra presente entre los folículos.
Estadio 3: Desove	
Durante este estadio reproductivo, los espermatozoides han sido expulsados al ambiente. Los folículos se encuentran parcialmente vacíos y sus paredes rotas. Marcado decremento en el número de espermatozoides que llenaban el lumen.	Algunos folículos contienen oocitos, otros se encuentran vacíos. Marcada reducción en el número de oocitos grandes que se encontraban libres en el lumen. Poco tejido conectivo está presente. Algunas paredes foliculares se presentan rotas.
Estadio 4: Posdesove	
Los folículos se observan colapsados, decreciendo en área; los espermatozoides presentes son fagocitados. Sin evidencia de que la espermatogénesis activa se esté llevando a cabo.	Los folículos se encuentran vacíos, a excepción de pocos oocitos libres sin desovar presentes en el lumen, los cuales son fagocitados. Las paredes foliculares se restablecen.

7. RESULTADOS

7.1 Muestras biológicas

7.1.1 Organismos de *Pteria sterna*

Se recolectaron de febrero del 2001 a febrero del 2002, un total de 368 organismos de *P. sterna*. En diciembre se recolectaron 4 organismos fuera del banco reproductor de la estación de muestreo "El Borbollón", los cuales se encontraron fijados en una gorgonia del género *Eugorgia* (Anexo III).

7.1.2 Temperatura

El valor más bajo de temperatura que se registró en la estación de muestreo "El Borbollón", fue de 16.1 °C, y el mayor fue de 24.6 °C, dichos valores corresponden a los meses de enero y septiembre del 2001, respectivamente (Figura 4)

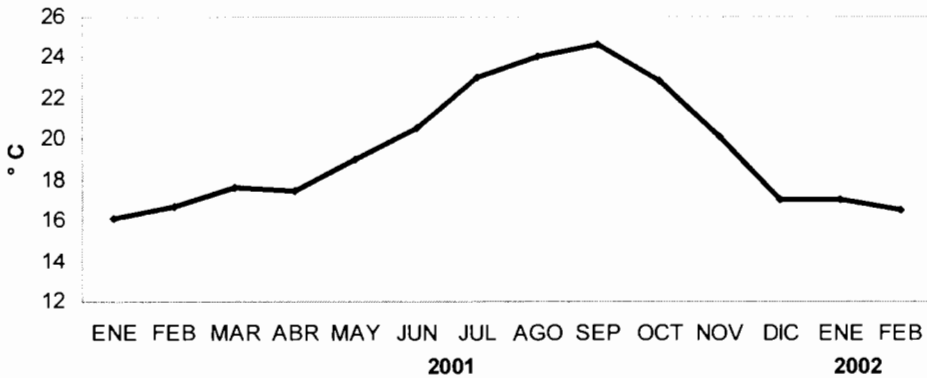


Figura 4. Temperaturas registradas en la Laguna Ojo de Liebre.

Las mayores diferencias de temperatura entre meses, se presentaron en junio y julio; y, de septiembre a diciembre de 2001 (Tabla II).

Tabla II. Diferencia de temperatura entre los meses de estudio.

Meses	Diferencia de temperatura (° C)
Ene-Feb 2001	0.6
Feb-Mar	0.9
Mar-Abr	0.1
Abr-May	1.5
May-Jun	1.5
Jun-Jul	2.5
Jul-Ago	1
Ago-Sep	0.6
Sep-Oct	1.8
Oct-Nov	2.7
Nov-Dic	3.1
Dic-Ene 2002	0
Ene-Feb 2002	0.5

7.2 Índices

7.2.1 Índice de Condición.

El índice de condición, presentó pocas variaciones, es decir, se mantuvo casi constante, con valores entre 0.60 y 0.91 (Figura 5). El análisis de varianza realizado, indicó que existe una diferencia significativa ($p = 0.00$) entre los meses de muestreo, formándose cinco grupos homogéneos; los meses de febrero a junio y agosto, forman el grupo con valores más altos, por otro lado, los meses de octubre y enero forman el grupo con los valores más bajos (Figura 6). El índice de condición y la temperatura registrada, no presentan una correlación significativa ($r = 0.029$, $p > 0.05$).

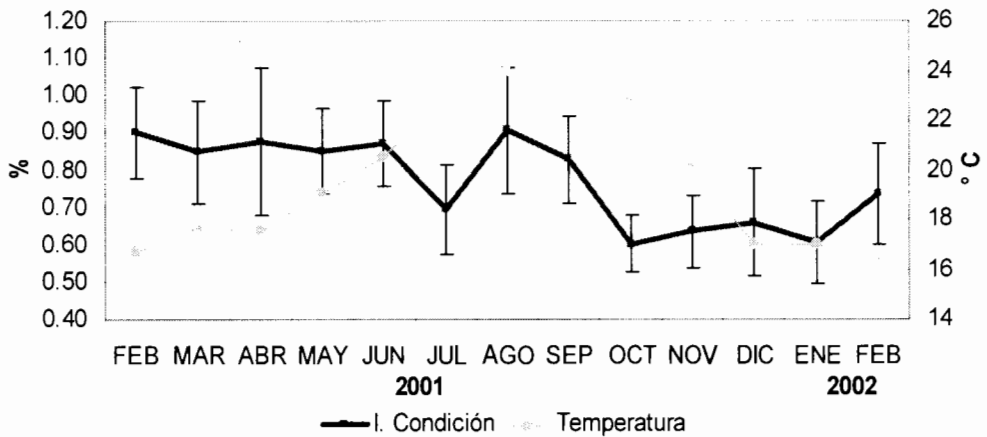


Figura 5. Índice de Condición de *P. sterna* y temperatura registrada.

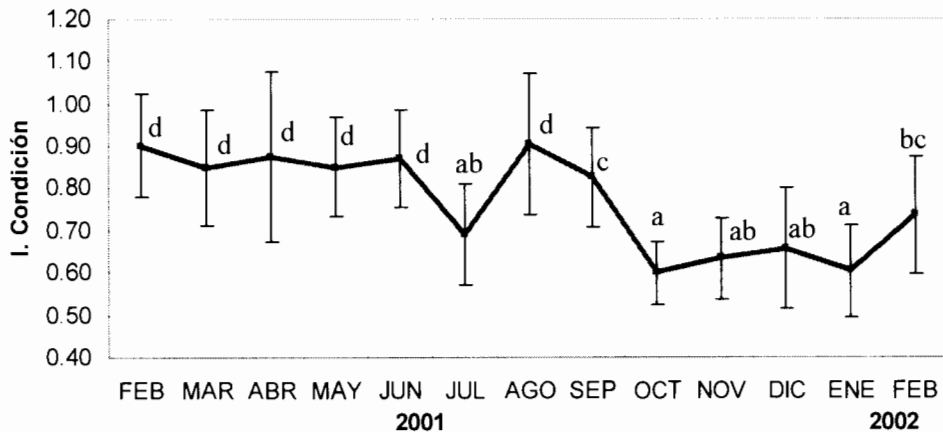


Figura 6. Grupos homogéneos formados para el Índice de Condición; letras similares indican que no hay diferencia significativa ($p > 0.05$).

7.2.1 Índice Gonádico

Los valores más bajos que se obtuvieron fueron de 1.1 y 1.2 correspondientes a los meses de abril y mayo del 2001, por otro lado, el valor más alto que se presentó fue de 4.7, correspondiente al mes de septiembre (Figura 7). Con el análisis de varianza realizado se encontró una diferencia significativa entre los meses del muestreo ($p = 0.00$), de tal manera que se formaron cinco grupos homogéneos, con el mes de septiembre representando un sólo grupo con el valor más alto y de manera contraria, abril forma un grupo con el valor más bajo (Figura 8).

El índice gonádico y la temperatura, presentaron una relación significativa ($r = 0.50$, $p < 0.05$). Los índices de condición y gonádico, no presentan correlación ($r = -0.028$ $p > 0.05$) (Anexo IV).

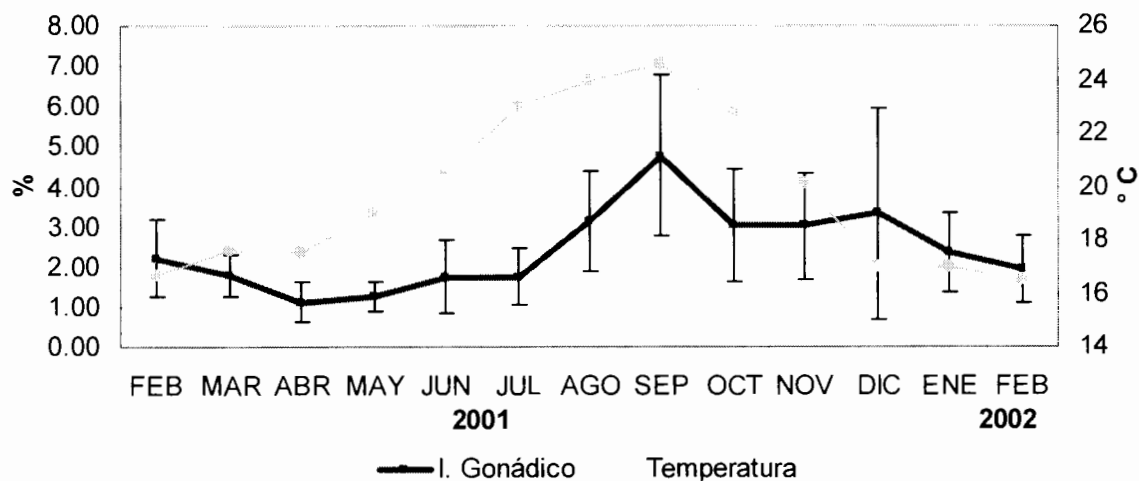


Figura 7. Índice Gonádico mensual de *P. sterna* y temperatura registrada en la estación de muestreo.

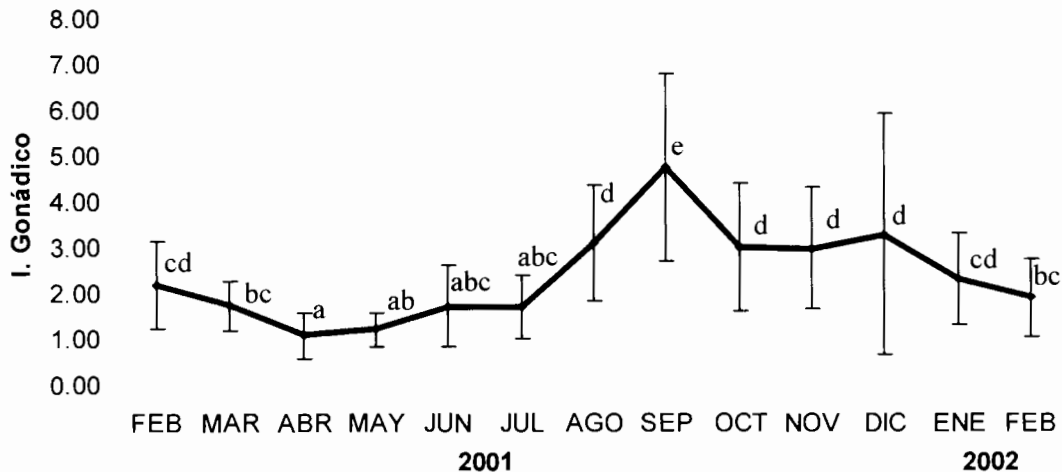


Figura 8. Grupos homogéneos formados para el Índice Gonádico; letras similares indican que no hay diferencia significativa ($p > 0.05$).

7.3 Proporción de géneros

En los 368 organismos recolectados, no se observaron organismos hermafroditas, 99 se encontraron en un estadio indiferenciado, 123 fueron hembras y 146 machos. Las hembras y machos, se agruparon en ocho intervalos de talla entre 26 mm y 145 mm de altura de la concha.

El 100 % de los individuos de 26 mm a 70 mm de altura fueron machos. Las hembras se observaron sólo en individuos de 80 mm de altura en adelante (Figura 9).

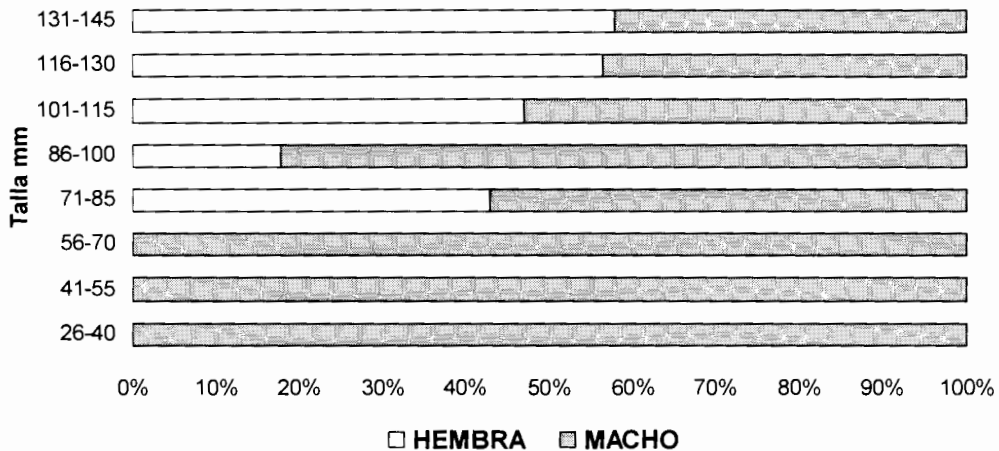


Figura 9. Frecuencia de géneros por clase de talla.

De acuerdo al análisis de χ^2 , se presenta una proporción de 1 H : 1 M en la clase de talla de 71-85 mm y a partir de 101 mm de altura de la concha en adelante. La proporción total de hembras y machos fue de 0.90 H : 1 M, la cual no difirió significativamente de la proporción esperada de 1 H : 1 M (Tabla III).

Tabla III. Proporción de géneros por clase de talla.

(*) indica significativamente distinto de 1 H : 1 M.

Talla (mm)	HEMBRAS	MACHOS	TOTAL	χ^2	Proporción
26-40		1	1	1.00*	0H:1M
41-55		3	3	3.00	0H:1M
56-70		6	6	6.00*	0H:1M
71-85	3	4	7	0.14	0.75H:1M
86-100	6	28	34	14.24*	0.21H:1M
101-115	45	51	96	0.38	0.88H:1M
116-130	58	45	103	1.64	1.29H:1M
131-145	11	8	19	0.47	1.38H:1M
TOTAL	123	146	269	1.00	0.90H:1M

7.4 Fases de desarrollo gonádico

En las preparaciones histológicas, se observó que el tejido gonádico se encontraba delimitado por la glándula digestiva y por fibras de colágeno.

Se observaron las 5 fases de desarrollo gonádico propuestas por García-Domínguez *et al.* (1996), tanto para hembras como para machos; se describen a continuación las características observadas en cada fase:

Indiferenciado

No se observa evidencia de desarrollo gonádico; fase caracterizada principalmente por la ausencia de gametos, por lo que no es posible diferenciar el género en estos organismos. Se observaron pocos folículos, los cuales estaban colapsados y tejido conetivo. Entre el tejido gonádico se observaron fagocitos (Figura 10).

7.4.1 Hembras

Desarrollo

Dentro del tejido gonádico se observó gran cantidad de folículos, los cuales contenían ovocitos en crecimiento, aún adheridos a las paredes de los folículos y de forma pedunculada; por otro lado, en algunos folículos se observaron unos pocos ovocitos libres ya maduros. Los folículos se encontraron rodeados por tejido conectivo y con un ligero espacio entre ellos (Figura 11A).

Madurez

Los folículos se encontraron casi llenos en su totalidad, con poco espacio entre ellos, con una gran cantidad de ovocitos maduros en su centro, aunque se pudo observar que la gametogénesis continúa con la presencia de ovocitos pedunculados, en crecimiento, aún adheridos a las paredes de dichos folículos (Figura 11C).

Desove

Se observó una disminución en el número de ovocitos maduros, así como algunas paredes de los folículos rotas. Por otro lado, en algunos folículos se observaron ovocitos maduros en espera de ser expulsados, los cuales pueden ser parte de un ciclo gonádico corto; así como evidencia de que la gametogénesis continúa (Figura 12A).

Posdesove

Se observó una disminución considerable en el tamaño de los folículos, en la mayoría de ellos se encontraron ovocitos residuales (ovocitos maduros que no han sido fagocitados), así como fagocitos y células con lipofuscinas (residuos de la fagocitosis). No se encontró evidencia alguna de gametos en crecimiento (Figura 12C).

7.4.2 Machos

Desarrollo

Se observó en la periferia de los folículos (túbulos seminíferos) la presencia de espermatogonias y una pequeña cantidad de espermatozoides en el centro de dichos folículos. Por otro lado, se pueden apreciar espacios libres intra- y extra-foliculares (Figura 11B).

Madurez

Se observó muy poco espacio entre y dentro de los folículos. La presencia de espermatozoides en el centro de los folículos ha aumentado; por otro lado se observa que la gametogénesis continúa, debido a la presencia de espermatogonias en la periferia de los folículos (Figura 11D).

Desove

En esta fase se observa que ha ocurrido la liberación de espermatozoides, debido a la disminución en su número en el centro de los folículos. Se observa que la gametogénesis aún continúa. Se observa una clara disminución en el tamaño de los folículos (Figura 12D).

Posdesove

El tamaño de los folículos ha disminuido considerablemente, incrementándose el espacio inter-folicular. No se observó evidencia de gametogénesis. Dentro de los folículos se pueden observar pocos espermatozoides residuales, así como la presencia de una gran cantidad de fagocitos, los cuales también se observan fuera de dichos folículos (Figura 12D).

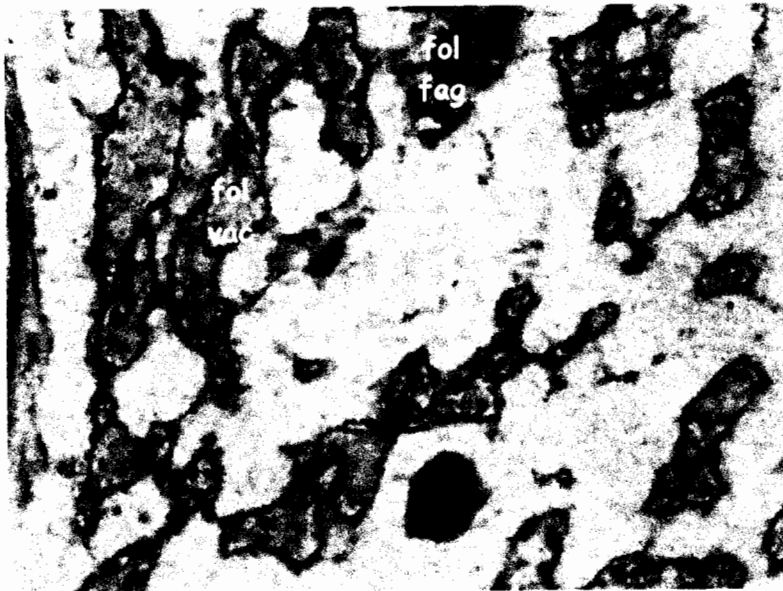


Figura 10. Estadio reproductivo de *P. sterna*: Indiferenciación. 100 X. fol vac: folículo vacío; fol fag: folículo con fagocitos.

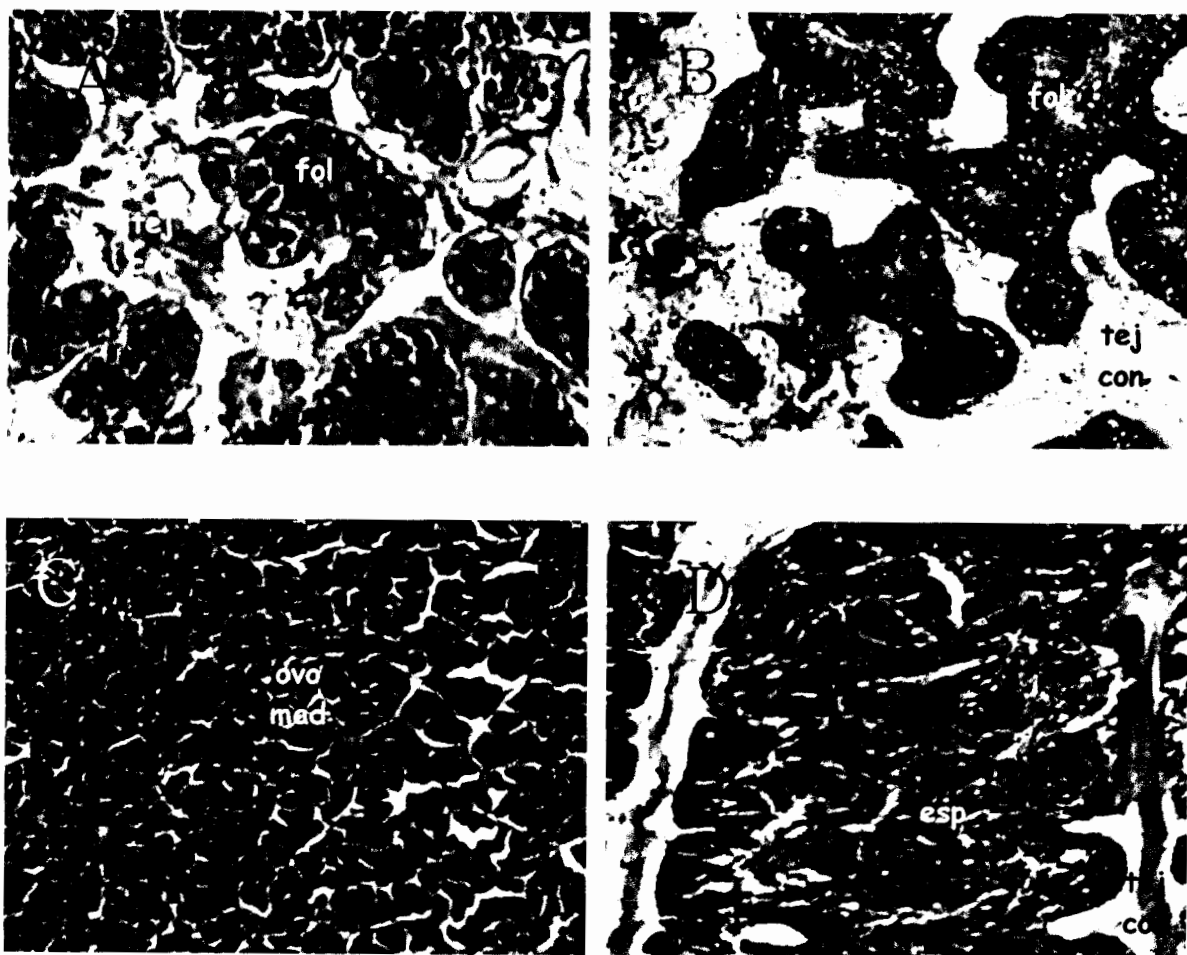


Figura 11. Estadios reproductivos de *P. sterna*. 100 X. (A) desarrollo en hembras. (B) desarrollo en machos. (C) madurez en hembras. (D) madurez en machos. fol: folículo; ovo mad: ovocito maduro; tej con: tejido conjuntivo; esp: espermatozoides.

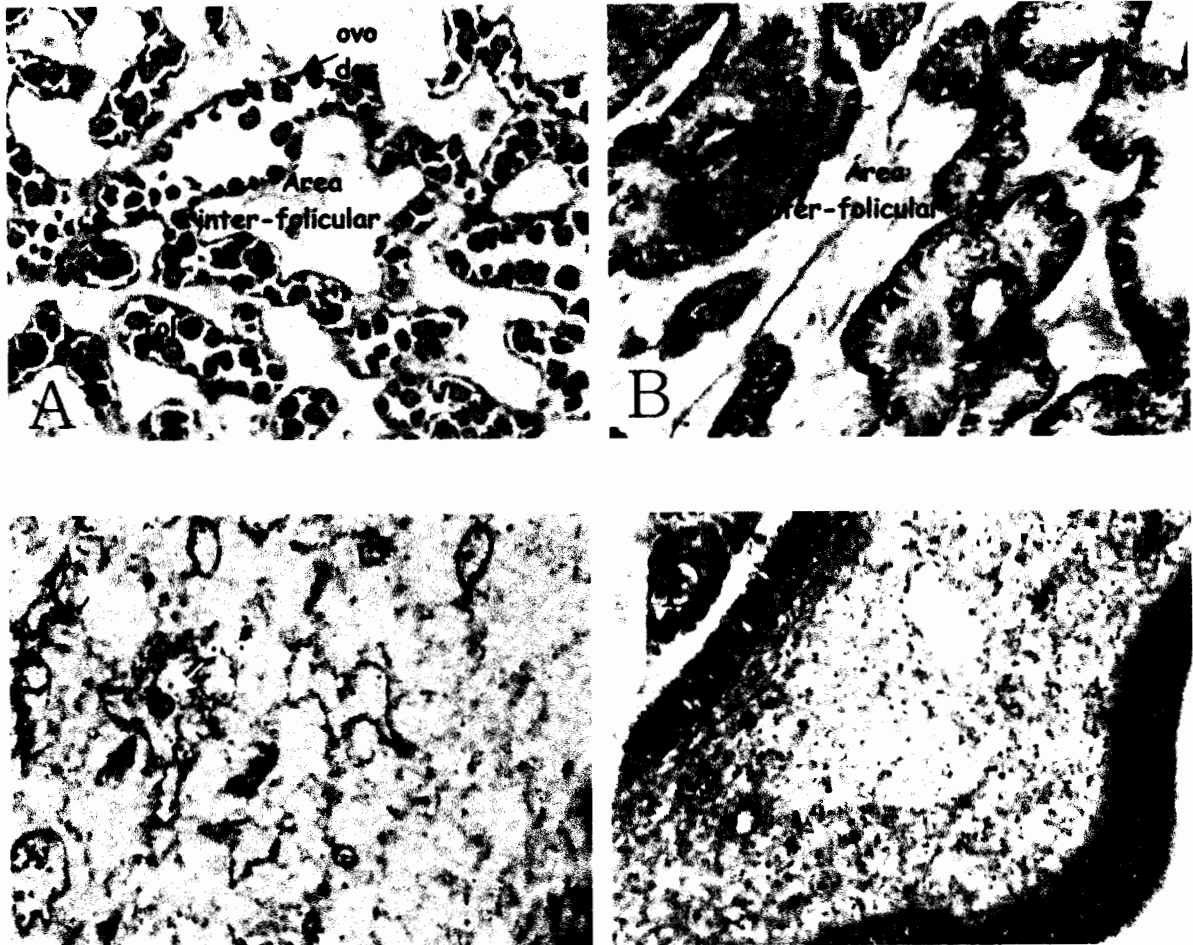


Figura 12. Estadios reproductivos de *P. sterna*. 100 X. (A) desove en hembras. (B) desove en machos. (C) posdesove en hembras. (D) posdesove en machos. fol: folículo; ovo des: ovocito en desarrollo; ovo res: ovocito residual; esp res: espermatozoides residuales.

7.5 Talla de primera madurez

7.5.1 Hembras

El intervalo de talla de primera madurez que se determinó fue de 116 mm a 120 mm de altura de la concha indicado con * en la Tabla IV.

Tabla IV. Frecuencias de hembras maduras por clase de talla.

Talla	Frecuencia	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada
71-75	1	1.10	1.10
76-80	1	1.10	2.20
81-85	1	1.10	3.30
86-90	0	0.00	3.30
91-95	0	0.00	3.30
96-100	4	4.40	7.69
101-105	4	4.40	12.09
106-110	10	10.99	23.08
111-115	15	16.48	39.56
*116-120	19	20.88	*60.44
121-125	15	16.48	76.92
126-130	12	13.19	90.11
131-135	2	2.20	92.31
136-140	6	6.59	98.90
141-145	1	1.10	100.00

7.5.2 Machos

El intervalo de talla de primera madurez que se determinó fue de 111 mm a 115 mm de altura de la concha indicado con * en la Tabla V.

Tabla V. Frecuencia de machos maduros por clase de talla.

Talla	Frecuencia	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada
25-30	1	0.90	0.90
30-35	0	0.00	0.90
36-40	0	0.00	0.90
41-45	1	0.90	1.80
46-50	1	0.90	2.70
51-55	1	0.90	3.60
56-60	3	2.70	6.31
61-65	2	1.80	8.11
66-70	1	0.90	9.01
71-75	3	2.70	11.71
76-80	1	0.90	12.61
81-85	0	0.00	12.61
86-90	2	1.80	14.41
91-95	9	8.11	22.52
96-100	7	6.31	28.83
101-105	12	10.81	39.64
106-110	10	9.01	48.65
*111-115	14	12.61	*61.26
116-120	15	13.51	74.77
121-125	7	6.31	81.08
126-130	13	11.71	92.79
131-135	7	6.31	99.10
136-140	0	0.00	99.10
141-145	1	0.90	100.00

7.6 Ciclo reproductivo

7.6.1 Hembras

Con base en el análisis histológico, se observó que el desarrollo en hembras se presentó de junio a septiembre, lo cual coincide con el incremento de la temperatura del agua. En septiembre, se presentó la frecuencia más alta de hembras maduras, coincidiendo con el valor más alto registrado de temperatura. En los meses posteriores, la temperatura comienza a disminuir; de octubre a marzo se observaron hembras en desove (Figura 13).

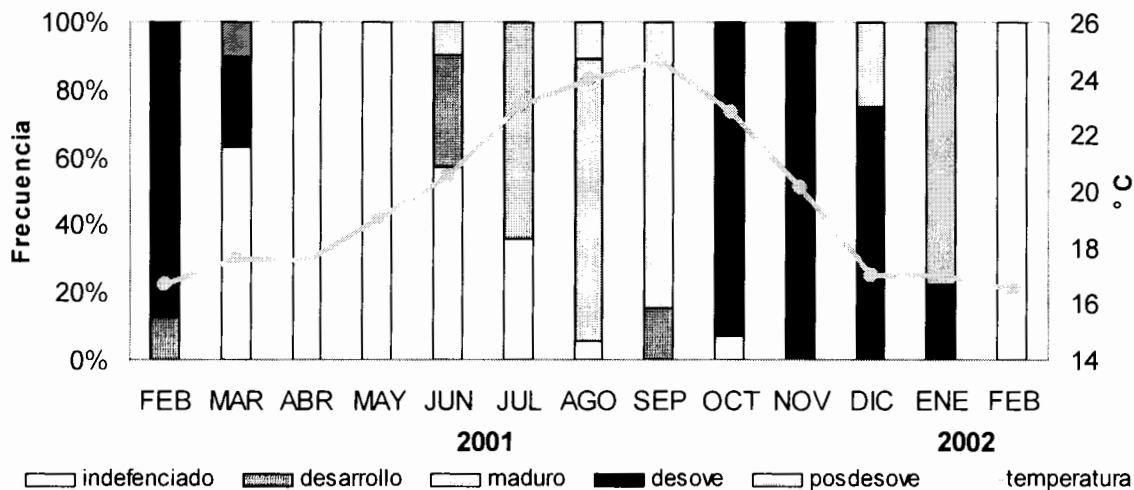


Figura 13. Ciclo reproductivo de hembras *P. sterna*.

7.6.2 Machos

El ciclo reproductivo en machos se presentó de manera similar al de hembras, con la presencia de organismos en desarrollo de junio a septiembre. También en septiembre se observó la presencia de machos maduros, coincidiendo con el valor de temperatura más alto, y organismos en desove de octubre a abril; siendo que a partir del mes de octubre el valor de temperatura del agua es menor que el mes anterior, que continúa descendiendo en los meses posteriores (Figura 14).

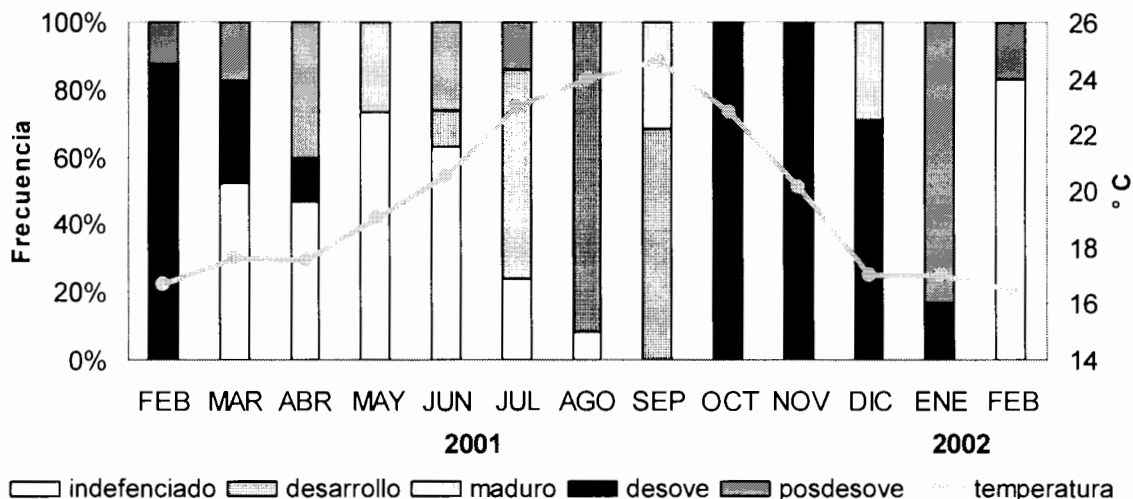


Figura 14. Ciclo reproductivo de *P. sterna* para machos.

7.7. Época de reproducción

La presencia de hembras y machos en desove determinó la época de reproducción, la cual se presentó en el periodo de octubre a abril (Figura 15).

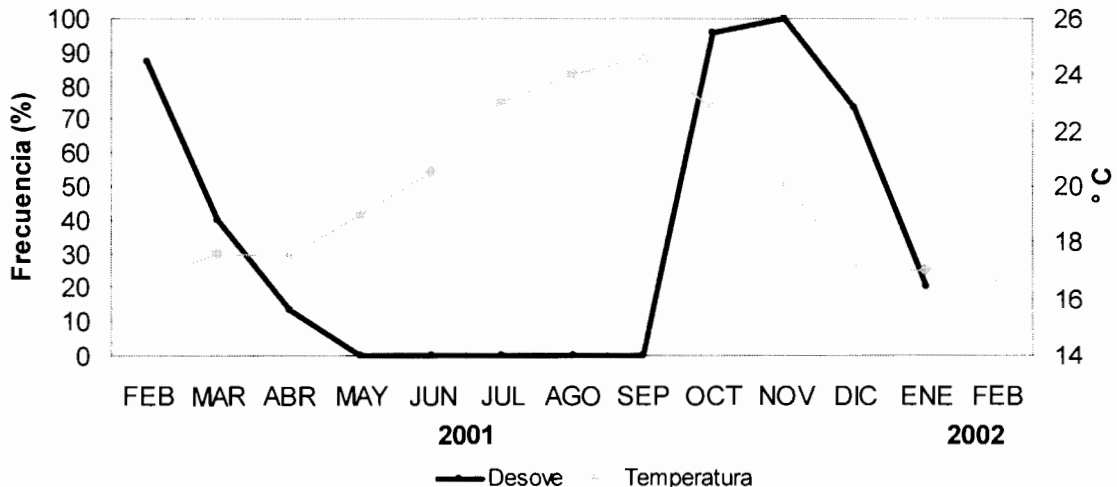


Figura 15. Frecuencia de desove de hembras y machos.

7.8 Promedio mensual del diámetro y área de ovocitos.

7.8.1 Diámetro de los ovocitos

Se observó un incremento y decremento en el diámetro de los ovocitos a lo largo del estudio. De tal forma que en junio se presentó el diámetro más bajo, el cual se va incrementando hasta septiembre; a partir de octubre los valores comienzan a decrecer hasta diciembre; en enero, febrero y marzo, se observa un aumento gradual en dicho diámetro, meses en los cuales el desove continúa (Figura 16).

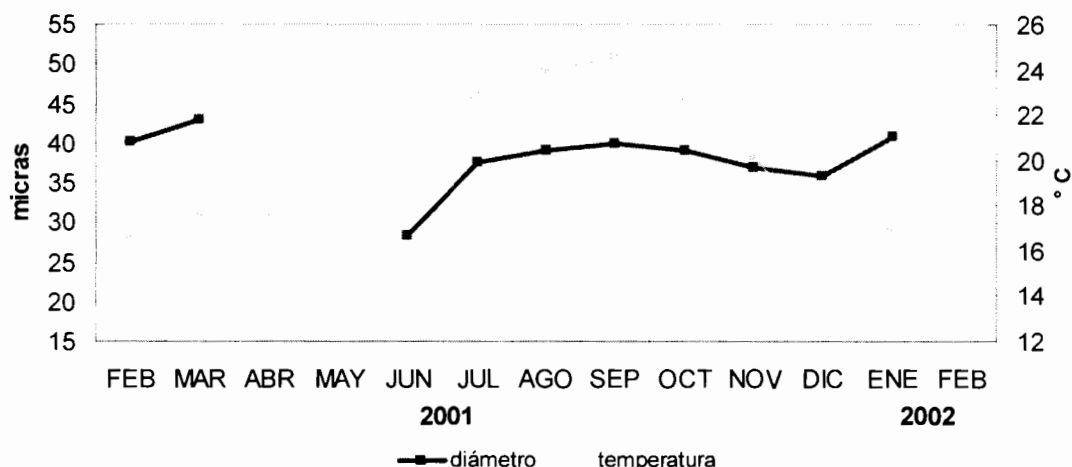


Figura 16. Diámetro de ovocitos vitelogénicos.

En los meses de junio, julio y agosto se observa un aumento gradual tanto en el diámetro de los ovocitos como en la frecuencia de organismos en desarrollo. En septiembre se presentó la frecuencia más alta de organismos maduros, lo cual coincide con un pico en el diámetro registrado. A partir de octubre, se observaron organismos en desove y el diámetro de los ovocitos presentes, que aún habían sido liberados, fue menor que el registrado en el mes de septiembre. En enero, febrero y marzo el diámetro de los ovocitos nuevamente se incrementa, predominando el desove, y en febrero se observó una frecuencia baja de organismos en desarrollo (Figura 17).

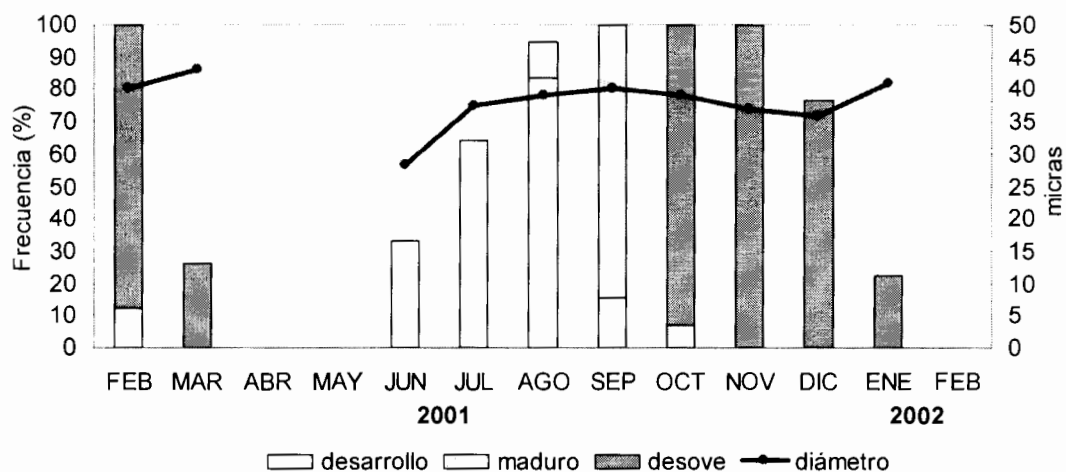


Figura 17. Frecuencia de los estadios gonádicos desarrollo, madurez y desove, y promedio mensual del diámetro de los ovocitos.

El análisis de varianza realizado indicó diferencia significativa ($F = 0.00$) entre el diámetro de los ovocitos a lo largo del período del estudio, formándose 5 grupos homogéneos. El mes de junio representa un solo grupo con el valor más bajo; julio, noviembre y diciembre representan otro grupo, agosto, septiembre, octubre, enero y febrero, representan otro grupo homogéneo con valores relativamente altos y el mes de marzo representa el último grupo con el valor más alto registrado (Figura 18) (Anexo V).

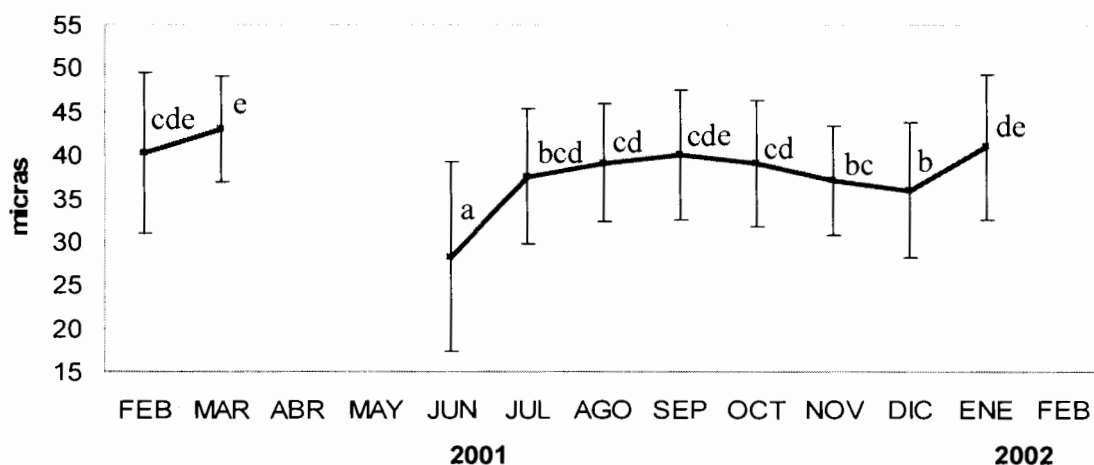


Figura 18. Cambios estacionales en el diámetro de los ovocitos; letras diferentes (a, b, c, d, e) indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

7.8.2 Área de los ovocitos

Los resultados obtenidos del análisis del área de los ovocitos presentaron una tendencia similar que el diámetro registrado, con una correlación de 0.84 ($p = 0.47$). La correlación que presenta el área con la temperatura, fue de -0.35 ($p < .033$).

El mes de junio presenta el valor más bajo, incrementándose en el mes de julio; a partir del mes de agosto el área decrece, manteniéndose casi constante hasta el mes de diciembre, y alcanza los valores más altos en los meses de enero, febrero y marzo (Figura 19).

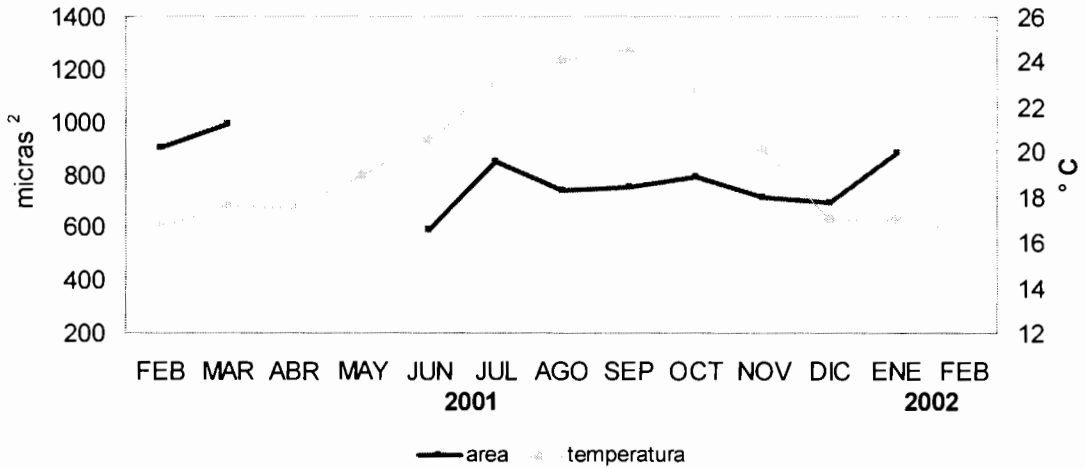


Figura 19. Área de ovocitos vitelogénicos.

El análisis de varianza indicó una diferencia significativa entre el área de los ovocitos a lo largo del período de muestreo ($p = 0.00$), de tal forma que se formaron 5 grupos homogéneos; junio forma un solo grupo con el valor más bajo, y marzo otro grupo con el valor más alto (Figura 20) (Anexo VI).

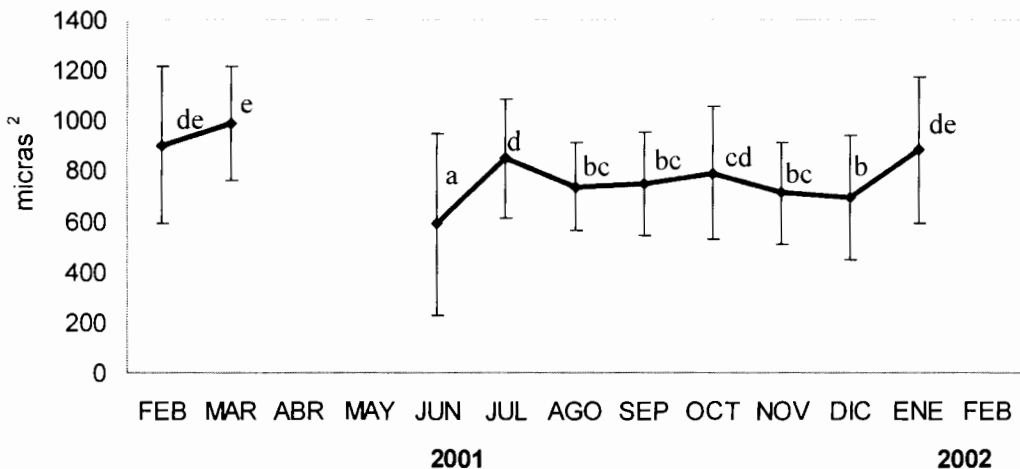


Figura 20. Cambios estacionales en el área de los ovocitos; letras diferentes (a, b, c, d, e) indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

7.9 Porcentaje mensual del área folicular en hembras

El promedio mensual del porcentaje del área folicular comienza a aumentar a partir del mes de junio, hasta septiembre; a partir de octubre dicho porcentaje comienza a disminuir hasta marzo, mes en el cual se presenta el valor más bajo. Estos son los meses en los cuales se presenta la época de reproducción (Figuras 21 y 22). El porcentaje de área folicular y la temperatura presentaron una correlación significativa con una $r = 0.90$ ($p = 0.031$).

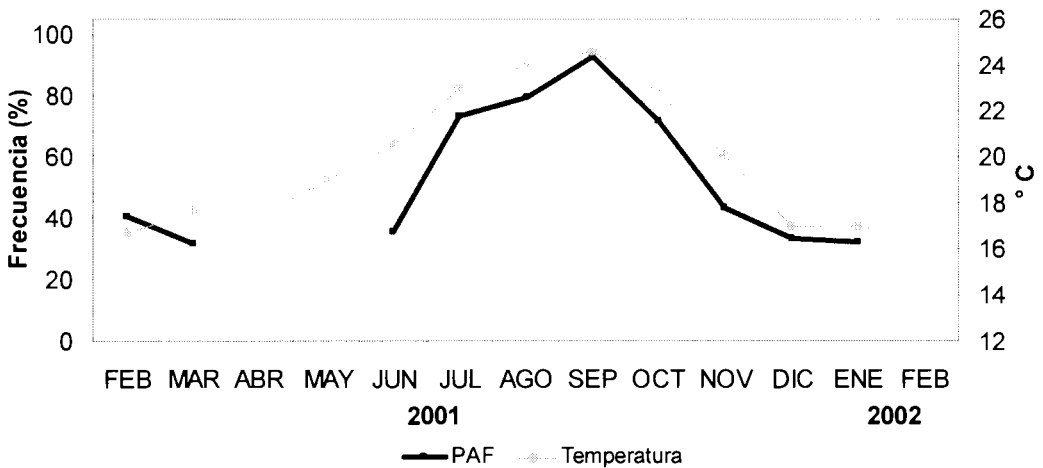


Figura 21. Área folicular y temperatura registrada.

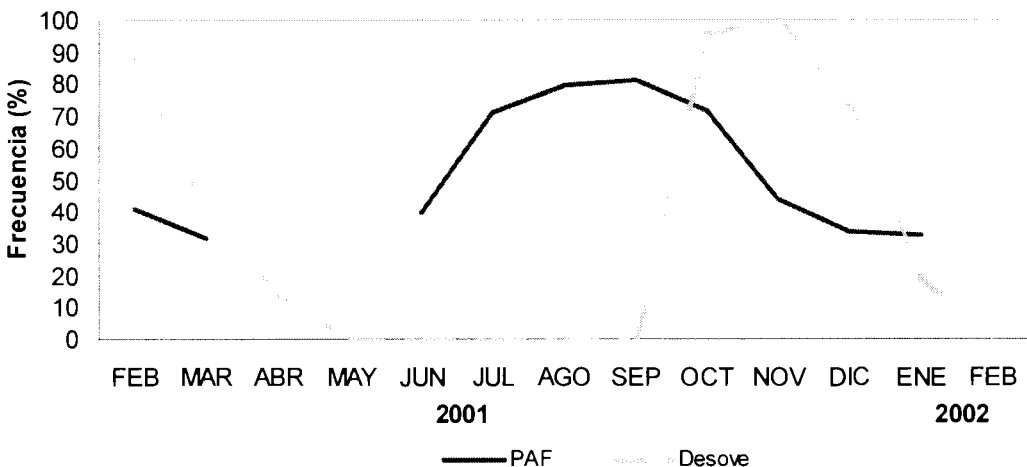


Figura 22. Porcentajes del área folicular y desove para *P. sterna*.

Una vez realizado el análisis de varianza, se encontró diferencia significativa entre los meses ($p = 0.00$; $p < 0.05$), formándose 3 grupos homogéneos: el primero, con los valores más bajos, corresponde a los meses de enero del 2002, febrero, marzo, junio, noviembre y diciembre; julio y octubre forman el segundo grupo con valores intermedios y; septiembre forma el tercer grupo con el valor más alto; el mes de agosto corresponde tanto al grupo de valores intermedios como al del valor más alto, de tal forma que se encuentra en transición (Figura 23) (Anexo VII).

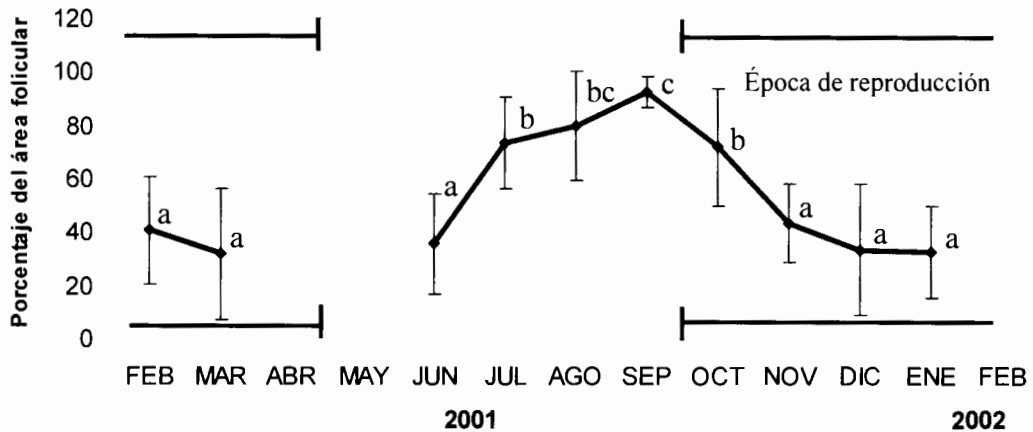


Figura 23. Cambios estacionales del porcentaje del área folicular; letras diferentes (a,b,c) indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

7.10 Determinación de Clorofila *a*

Se presentan los resultados correspondientes de enero de 2001 a enero de 2002, en donde el valor más bajo de concentración de clorofila *a* fue de 0.52 mg/m^3 , en los meses de diciembre de 2001 y enero de 2002; el valor más alto encontrado fue de 1.02 mg/m^3 en el mes de octubre. Por otro lado, en la figura 24 podemos observar que se presentan tres picos a lo largo del año, correspondientes a primavera (marzo), verano (junio) cuando la temperatura se encuentra en ascenso, y uno más en otoño (octubre) cuando los valores de temperatura fueron los más elevados y comenzaron a descender; de tal forma que

en este caso los valores de concentración de clorofila *a* y la temperatura presentaron una correlación directa ($r = 0.54, p < 0.05$).

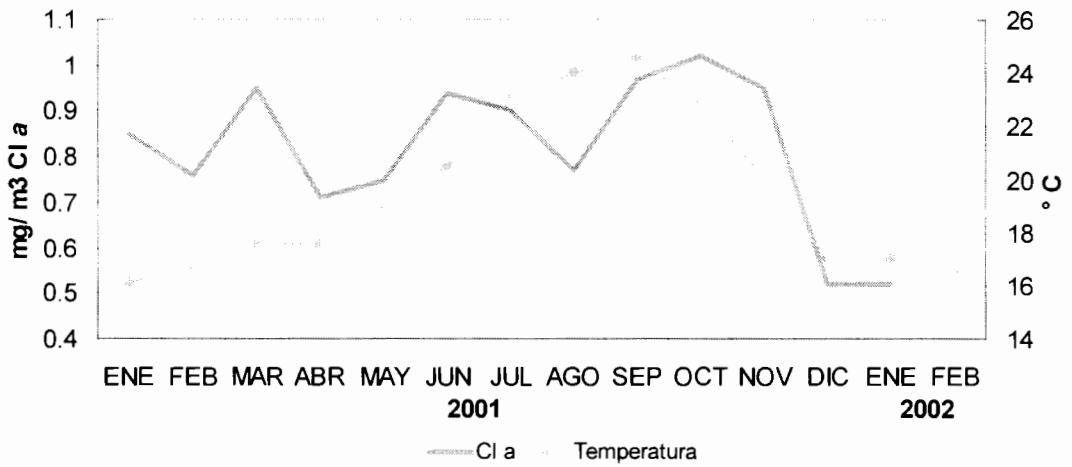


Figura 24. Concentración de Clorofila *a* y temperatura, en la Laguna Ojo de Liebre.

Un incremento en junio en la concentración de Clorofila *a* coincide con una frecuencia alta de organismos en desarrollo. El mayor incremento de clorofila *a* que se registró a lo largo del estudio, en octubre, coincide con organismos en desove, después de que el mes anterior se presentara la frecuencia más alta de organismos maduros (Figura 25).

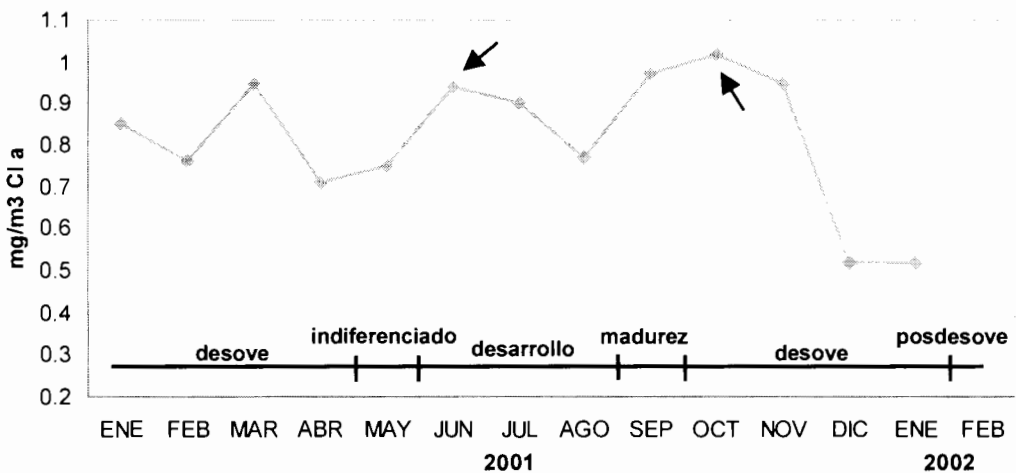


Figura 25. Concentración de clorofila *a* y estadios de desarrollo gonádico.

La concentración de clorofila *a* y el desarrollo presentaron una correlación de 0.245 ($F_{(1,10)} = 0.638$; $p < 0.442$) y con el desove de 0.341 ($F_{(1,10)} = 0.0116$; $p < 0.916$).

8. DISCUSIÓN

Proporción de géneros

En trabajos realizados en el Golfo de California con otras poblaciones de *P. sterna* se ha observado una mayor frecuencia de hembras en las tallas mayores; conforme crece el organismo, la proporción de géneros tiende a ser de 1 H : 1 M (Arizmendi-Castillo, 1996; Díaz y Bückle, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997), proporción que presentan los bivalvos gonocóricos verdaderos, la cual puede ser ligeramente mayor en hembras (Mackie, 1984). En la población de *P. sterna* de la Laguna Ojo de Liebre, se observó una situación similar, las hembras estuvieron presentes a partir de los 71 mm de altura de la concha, en los organismos recolectados en el Borbollón; mientras que en los recolectados fijos en la gorgonia *Eugorgia* sp., se encontró una hembra de 52 mm de altura.

La producción de óvulos requiere cerca de un 50% más de energía que la producción de espermatozoides, por lo que la protandria puede estar ligada a un alto costo bioenergético para las hembras (Mackie, 1984).

En este sentido, se puede explicar por qué se presentó una mayor frecuencia de machos en tallas pequeñas, ya que es una estrategia para destinar una mayor cantidad de energía hacia el crecimiento. En experimentos de repoblamiento de concha nácar, se ha observado que los organismos con tallas promedio de 69 mm de altura son altamente vulnerables a la depredación, principalmente por pulpos y peces de la familia Diodontidae (Rangel-Dávalos *et al.*, 2000), y en organismos de unos 100 mm de altura la mortalidad fue de aproximadamente el 13 % de la población sembrada (Olivera-Bonilla, 2002); de tal forma, que a partir de 70 mm de altura aproximadamente se lleva a cabo una reversión de género, es decir, protandria, siendo más frecuentes las hembras y de esta manera presentar una proporción de 1 H : 1 M en tallas mayores. Lo que coincide con Saucedo y Monteforte (1997), los cuales indican que en esta especie puede ocurrir una reversión de género en tallas mayores a 55 mm de altura de la concha.

Entonces, la población analizada presentó protandria, pero no se observaron organismos hermafroditas, por lo tanto no se tuvo una evidencia histológica del cambio de género; de tal forma que este pudo haberse dado después de que los organismos pasaran por el estadio de indiferenciación y presentaran tallas mayores a 70 mm.

Organismos hermafroditas de la misma especie, se han observado en otras poblaciones (Arizmendi-Castillo, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997). En *Pinctada*, otro género de la familia Pteriidae, se ha observado hermafroditismo protándrico (maduran como machos y cambian a hembras a cierta talla) (Sevilla, 1969; García-Domínguez *et al.*, 1996; García-Cuéllar, 2001). En *P. sterna*, Hernández (1993, citado por Arizmendi-Castillo, 1996) observó hembras de tallas muy pequeñas (8 mm de altura) y, por otro lado, Arizmendi-Castillo (1996) encontró evidencia histológica de organismos en transición de machos a hembras y un organismo de hembra a macho, situación por la que *P. sterna*, no ha sido considerada como una especie estrictamente protándrica, sino como hermafrodita alternada (secuencial), es decir, que puede madurar inicialmente de manera indistinta, como macho o como hembra. Tranter (1958d) y Rose *et al.*, (1990) encontraron evidencia de cambio de género en ambos sentidos en *P. margaritifera* y en *P. maxima*, considerándose que el hermafroditismo era transicional y no funcional (hermafrodita sincrónico).

Por otro lado, los organismos hermafroditas de *P. sterna* que se han observado, han sido en frecuencias muy bajas en la Bahía de La Paz: 0.6% (Saucedo y Monteforte, 1997) y en Guaymas, Son., en organismos de cultivo: 4.17% y ningún organismo hermafrodita en la población silvestre analizada (Arizmendi-Castillo, 1996). En poblaciones del Golfo de California situadas en latitudes más altas con respecto a las anteriores, no se han observado organismos hermafroditas, como Bahía de Los Ángeles (Díaz y Bückle, 1996) y una población más al norte (Hernández 1993, citado por Arizmendi-Castillo, 1996), al igual que en el presente estudio en la Laguna Ojo de Liebre.

En relación a los factores que determinan la presencia de organismos hermafroditas en ciertas poblaciones, Tranter (1958c) menciona que el hermafroditismo está determinado por la interacción de factores genéticos y ambientales.

Se sugiere que varias combinaciones de cuatro pares de genes determinan el género; por lo que una de las hipótesis sobre las causas que determinan el cambio de género en organismos gonocóricos es que ciertos genes activan o suprimen hormonas específicas que determinan que sean machos o hembras en ciertas etapas del desarrollo; y si estas hormonas específicas se liberan simultáneamente resulta un hermafroditismo funcional (los otros tipos de hermafroditismo dependen de la secuencia en que se produzcan dichas hormonas y del tiempo en que se da una producción sucesiva); tales hormonas responden a factores ambientales. En investigaciones citológicas se ha visto la presencia de cromosomas en almejas, ostras y mejillones, pero en ninguna de las especies examinadas, ni en organismos hermafroditas, apareció evidencia de la presencia de cromosomas sexuales (Mackie, 1984; Sastry, 1979).

Entre los factores ambientales que influyen en el cambio de género se encuentra la disponibilidad de alimento. Tranter (1958a) indica que *Pinctada albina* hereda la capacidad de responder diferencialmente al ambiente, en donde la fase sexual está condicionada por niveles de reservas de alimento, desarrollando espermatogonias cuando las reservas son bajas y ovogonias cuando son altas.

Con base en lo anterior, la cantidad de alimento disponible pudo ser la razón de que en Guaymas, Son., se encontraran organismos hermafroditas en el cultivo y no en el medio, ya que los organismos de cultivo están sometidos a un estrés adicional, como el ocasionado por las densidades de cultivo, la manipulación durante el mantenimiento y por la abundante fauna de acompañamiento que se adhiere a las artes de cultivo, aspectos que pueden ocasionar una mayor competencia por el alimento, así como una menor tasa de filtración (Arizmendi-Castillo, 1996), lo que se traduciría en menor energía disponible para la producción de gametos. Esta situación también se ha observado en *P. mazatlanica*, en donde las hembras aparecen con mayor frecuencia en

poblaciones naturales y los machos predominan en condiciones de cultivo (Saucedo *et al.*, 2002b); y en *Argopecten irradians*, en donde sólo se desarrollan los espermatozoides cuando la cantidad de energía es baja, siendo que el crecimiento de los oocitos se suspende con la ausencia de alimento (Sastry, 1979).

La densidad poblacional puede ser un factor que influye en la presencia de hermafroditismo en las poblaciones naturales. En holotúridos se ha observado una alta frecuencia de hermafroditismo en lugares donde la densidad de la población es baja, y si la densidad de la población se incrementa la presencia de hermafroditas decrece (Herrero-Perézrul *et al.*, 1998). Por lo que el hermafroditismo que se ha observado en algunas poblaciones de *Pteria sterna* en el Golfo de California puede estar influenciado por el fuerte decremento de dichas poblaciones, como resultado de la sobrepesca que se llevó a cabo y, actualmente, por la pesca clandestina. En la Bahía de La Paz se encontró un banco con 175 organismos de *P. sterna*, con una densidad del orden de 3.0 organismos/m², observándose organismos hermafroditas (Monteforte y Cariño, 1992); por contra, en la Laguna Ojo de Liebre no se encontraron organismos hermafroditas y se observaron bancos con densidades altas de esta especie, aunque se requiere llevar a cabo estudios sobre la estructura poblacional para determinar con precisión la densidad de *P. sterna* en dicha zona. Una situación similar se ha observado en diferentes poblaciones de *Anodonta cygnea*, en donde las condiciones ambientales han influido directamente sobre la determinación del género, en términos de la proporción de géneros y en las tasas de hermafroditismo (Sastry, 1979).

De tal forma, que la presencia de organismos hermafroditas en esta especie se encuentra influenciado principalmente por los factores ambientales, aspecto que requiere de estudios más a fondo.

Talla de primera madurez

Desde los 26 mm de altura de la concha se observaron machos maduros y desde los 76 mm de altura de la concha se observaron hembras maduras; pero el intervalo de talla donde ya se considera que la población ha alcanzado la talla de primera madurez es de 111-115 mm de altura de la concha para los machos y de 116-120 mm para las hembras.

En *P. sterna* se han observado desoves de organismos de 8 mm a 11 mm de altura de la concha, aunque los gametos pueden no ser viables. Hernández (1993, citado por Arizmendi-Castillo, 1996) encontró que *P. sterna* es una especie en la que machos y hembras maduran por separado, con tallas de 8 mm las hembras y 9.3 mm los machos. Este autor también encontró que la maduración del 50% de los organismos sucede a los 51.8 mm en los machos y a los 34.9 mm en hembras, en semilla captada en agosto en Bahía de los Angeles.

Debido a que *P. sterna* es de las especies relativamente más pequeña de la familia Pteriidae, se cree que maduran desde tallas más chicas (Saucedo y Monteforte, 1997). Esta maduración temprana se relaciona con las especies más pequeñas y menos longevas, como *P. albina* que madura y desova a los cuatro meses de vida (aproximadamente 20 mm de altura de la concha, Tranter, 1958a) y *P. fucata* (Tranter, 1959). En poblaciones de *P. sterna* de la Bahía de La Paz se observaron organismos maduros desde los 40 mm de altura, lo que corresponde a 11 meses de edad, pero no hubo muestreo de organismos menores (Saucedo-Lastra, 1995); Rangel y Chávez (1994) mencionan que esta especie alcanza la madurez a una talla de 70-80 mm.

Ciclo reproductivo

El ciclo reproductivo de las especies está genéticamente controlado y se ve afectado por el ambiente, por lo que la sincronización y duración de la actividad reproductiva es producto de la interacción de factores exógenos (principalmente temperatura, salinidad, fotoperíodo y alimento) y endógenos (control hormonal y acumulación de nutrientes). La sincronización de los períodos reproductivos con las condiciones ambientales más favorables resulta de suma importancia para el

desarrollo y crecimiento de la progenie (Giese y Pearse, 1974; Sastry, 1979; Brown *et al.*, 2002).

Aunque el índice gonádico describió adecuadamente la actividad reproductiva de las ostras, fue utilizado como un método complementario en el seguimiento del ciclo reproductivo, ya que presentó limitaciones, como la dificultad de pesar una gónada difusa; además hay que tomar en cuenta que el peso se puede ver afectado por el almacenamiento de reservas de energía y por parásitos (Grant y Tyler, 1983a; Saucedo y Monterforte, 1997); estas limitaciones se contrarrestaron y complementaron con el estudio histológico, el cual nos dio certeza de la condición de la gónada. El porcentaje del área folicular resultó un método cuantitativo más preciso que el índice gonádico, ya que midió directamente el porcentaje del área ocupada por los folículos en la gónada.

Pteria sterna presentó un patrón de reproducción anual, de manera sincrónica, influenciado principalmente por la temperatura y por la disponibilidad de alimento. Lo cual coincide con lo propuesto por Sastry (1979), quien menciona que el patrón del ciclo reproductivo está influenciado por la historia térmica de las especies y por la distribución geográfica de la población.

La reproducción de bivalvos marinos representa un periodo muy particular de alta demanda de energía, con el costo del mantenimiento del organismo y el costo de la síntesis de los gametos, para lo cual se requiere de un suplemento de comida, reservas de nutrientes almacenadas en órganos o tejidos como la glándula digestiva, manto y músculo aductor; o la combinación de ambos (Saucedo *et al.*, 2002a). La abundancia relativa del alimento es un factor que regula la gametogénesis; ya que cuando se presentan los florecimientos estacionales del plancton, la gametogénesis es regulada por medio de una adecuada disponibilidad de alimento (Giese y Pearse, 1974).

La abundancia del fitoplancton presentó variaciones estacionales en la Laguna Ojo de Liebre, caracterizadas por tres florecimientos: en primavera, verano y otoño.

Las ostras perleras se alimentan directamente del seston filtrado, el cual incluye bacterias, plancton vivo, detritus orgánico y partículas inorgánicas

(Avellanal *et al.*, 2002). La principal fuente de energía es el fitoplancton, el cual puede ser una importante limitante, por lo que su calidad y abundancia afectarán la tasa de crecimiento, el desarrollo gonádico y la supervivencia de los moluscos bivalvos (Arsenault y Himmelman, 1998; Luna-González *et al.*, 2000). Se han encontrado especies bentónicas y pelágicas por igual en el intestino de bivalvos de aguas someras (diatomeas, dinoflagelados, tintínidos loricáceos, silicoflagelados, coccolitofóridos, fragmentos de macroalgas, restos de espículas, foraminíferos, nemátodos y detritus, partículas de entre 9 μm y 231 μm). En estudios realizados con mejillones y almejas, se observó que todos los taxa de microalgas identificados en los intestinos de los mejillones también fueron identificados en las muestras de agua (Ciocco y Gayoso, 2002). Tomando en cuenta lo anterior es de suponerse que lo que se encuentra en la columna de agua, y está en el intervalo de tamaño que el organismo puede filtrar, es alimento potencial, por lo que el análisis realizado en las muestras de agua es representativo del alimento disponible. Por otro lado, se ha observado una relación directa entre la abundancia del fitoplancton y la concentración de Clorofila *a* (Schejter *et al.*, 2002).

De febrero a junio se observó un índice de condición alto, meses en los que se presentaron organismos en desove, posdesove e indiferenciados, y particularmente en junio se observaron organismos en desarrollo. Sastry (1979) menciona que antes de comenzar el desarrollo gonádico y la gametogénesis, el organismo requiere de ciertas condiciones ambientales, cuando la actividad neuroendocrina responde a los cambios externos, regulando los eventos reproductivos en el organismo. De tal forma que los altos valores en el índice de condición que se presentaron durante dicho mes y los previos pueden ser ocasionados por una acumulación de reservas de nutrientes, en términos de un suplemento para el desarrollo de las gónadas. La acumulación de reservas de nutrientes se relaciona con un incremento en la biomasa fitoplanctónica, la cual se refleja por el incremento de la concentración de Clorofila *a*. De tal forma que cuando inició el desarrollo en la mayoría de los organismos, coincidió con otro incremento en la concentración de este pigmento.

Los bivalvos son capaces de almacenar reservas de nutrientes en los tejidos del cuerpo durante los periodos de alta disponibilidad de alimento, en forma de lípidos, glucógeno y substratos proteínicos, y posteriormente movilizarlos y utilizarlos en la producción de gametos cuando la demanda metabólica es alta (Rodríguez-Astudillo *et al.*, 2002; Saucedo *et al.*, 2002a). En *P. mazatlanica* se observó que la energía es almacenada antes de la gametogénesis, cuando el alimento fue abundante. Se ha visto que organismos en desarrollo, como *P. mazatlanica* en la Bahía de La Paz, coinciden con un pico en la disponibilidad de alimento (Saucedo *et al.*, 2002b), el cual provee de la porción de nutrientes requerida para el desarrollo gonádico.

Entonces, partiendo de que la gametogénesis representa un período muy particular de alta demanda de energía, es de suponerse que la energía requerida para este proceso fue obtenida del alimento ingerido y de las reservas de nutrientes almacenadas en órganos especializados.

Bayne (1976) divide a los bivalvos en tres grupos basándose en el patrón gametogénico y la disponibilidad de alimento en el medio: "especies conservativas", cuando la energía de la gametogénesis proviene de los tejidos; y "especies oportunistas", cuando la gametogénesis ocurre cuando hay abundante fitoplancton en el medio; y una combinación de las anteriores. Partiendo de lo anterior, se propone a *P. sterna* como una especie intermedia, conservativa y oportunista, aunque para confirmarlo es necesario realizar análisis bioquímicos a fin de establecer si existe transferencia de nutrientes. Se ha determinado un comportamiento similar en otras especies de bivalvos, como *Argopecten ventricosus* (Luna-González, 2000).

Está bien demostrado, que los bivalvos pueden transferir nutrientes almacenados de tejidos somáticos hacia la gónada durante la gametogénesis (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1996); así como el reciclaje del material atrésico y la transferencia directa de los metabolitos del intestino para el desarrollo de los gametos (Sastry, 1979). Estos procesos también pueden estar regulados por la temperatura, como en *Spondylus leucacanthus*, donde la transferencia de

nutrientes y su uso se lleva a cabo cuando la temperatura varía como resultado de los cambios estacionales (Rodríguez-Astudillo *et al.*, 2002).

La gametogénesis se presentó a partir de junio, lo cual se reflejó en un aumento en el índice gonádico, el tamaño de los ovocitos y el porcentaje del área folicular, hasta alcanzar valores máximos en septiembre, cuando se presentó una frecuencia alta de organismos maduros.

La variación en el diámetro de los ovocitos que se presentó entre meses se debió a que los miembros de la población se encontraban en diferentes estadios de desarrollo gonádico, lo cual fue comprobado con el análisis histológico. Un hecho similar ha sido observado en otras especies de bivalvos (Tirado y Salas, 1998).

El inicio del desarrollo gametogénico coincide con un incremento de la temperatura del agua en junio, con respecto al mes anterior. Sastry (1979) menciona que en algunas especies tropicales, expuestas a una ligera variación anual de la temperatura, el crecimiento gonádico y la gametogénesis ocurren a bajas temperaturas, pero, cuando la distribución de dichas especies se extiende hasta zonas frías o altas latitudes, la gametogénesis se da en un periodo restringido del año, a partir de un incremento de la temperatura del agua. Este es el caso de la población de *P. sterna* de la Laguna Ojo de Liebre, localidad situada en una latitud relativamente alta, donde la gametogénesis se presentó en el verano (de junio a septiembre), de manera contraria a lo que ocurre con poblaciones tropicales, en donde la gametogénesis ocurre en meses fríos.

Una frecuencia alta de organismos en desove coincidió con la mayor abundancia de fitoplancton. Aunque los niveles de Clorofila *a* no mostraron una correlación significativa con las frecuencias de desarrollo y desove, la coincidencia de máximos de estos procesos con picos en la concentración de pigmento indica alguna influencia. Las concentraciones de clorofila *a* de septiembre, octubre y noviembre actuaron como un disparador del desove. Por otro lado, la abundancia de alimento en el medio, proporciona condiciones nutricionales favorables para las larvas durante su vida planctónica (Brockington y Clarke, 2001; Muñeton-Gómez *et al.*, 2001). Se ha observado una correlación positiva entre desoves de

Crassostrea gigas, mejillones y erizos, con florecimientos de fitoplancton, los cuales fueron suficientes para inducir el desove (Arsenault y Himmelman, 1998; Tirado *et al.*, 2002).

El factor considerado como más importante en la inducción del desove en bivalvos es la temperatura. En muchas especies el desove se inicia cuando la temperatura alcanza un nivel crítico, característico de cada especie (Sastry, 1979; Mackie, 1984; Arsenault y Himmelman, 1998). Jica (1987, citado por Arizmendi-Castillo, 1997) menciona que *P. sterna* presenta una afinidad templada y su óptimo de temperatura está entre 24 °C y 28 °C. Sin embargo, en el presente trabajo se observó que el desove inició a los 22.8 °C, en octubre, cuando la temperatura bajó después del máximo registrado. En otras especies de bivalvos del Golfo de California también se ha observado que el periodo de desove está directamente relacionado con el descenso de la temperatura del agua (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1995). El desove coincide con un decremento tanto en el índice gonádico como en el de condición y en el porcentaje del área folicular; ésto se debe a que la reproducción demanda un considerable consumo de energía, lo que ocasiona una pérdida de peso durante el desove, el cual puede llegar a ser de entre 30 a 60%, ya que las reservas acumuladas ya han sido utilizadas (Román *et al.*, 2002; Saucedo *et al.*, 2002a). Saucedo y Monteforte (1997) mencionan que en *P. mazatlanica* y *P. sterna*, valores altos del índice gonádico coinciden con gónadas en desarrollo o madurez y que valores bajos coinciden con organismos desovados o indiferenciados. De tal forma que la presencia de un solo pico en el índice gonádico y en el porcentaje del área folicular confirma que la población de la Laguna Ojo de Liebre tiene un patrón reproductivo anual muy marcado. Así que, cuando la población se encontró madura, el desove se llevó a cabo de una manera sincrónica debido a la interacción entre los organismos y los factores exógenos.

Las gónadas contienen tejido conectivo y músculo y cualquier factor que ocasione la contracción del músculo gonadal puede ocasionar el desove en organismos maduros, como puede ser un cambio brusco en la temperatura del agua (Giese y Pearse, 1974), bajo este contexto, el desove se llevó a cabo cuando

la temperatura del agua bajó después del valor máximo registrado, continuando dicho evento en los meses posteriores, donde se presentaron las mayores diferencias en cuanto a la temperatura del agua entre dichos meses. La influencia de la temperatura en el desove se ha comprobado en experimentos de laboratorio, en los que se observó que los estímulos térmicos son un disparador del desove en ostras perleras maduras (*P. sterna* y *P. mazatlanica*) (Rangel-Dávalos *et al.*, 2000; Hernández-Olalde, 2001). De manera general, se ha comprobado que el efecto de la temperatura en la inducción al desarrollo gonádico, coincide con los patrones observados en poblaciones naturales de ostras (Giese y Pearse, 1974; Jeffs *et al.*, 2002).

La alta sincronización del desove entre machos y hembras observada en esta población de *P. sterna* permite una fertilización alta, además de proveer a las larvas o juveniles de condiciones ambientales favorables (en términos de temperatura y cantidad de alimento) para su supervivencia y crecimiento, por lo que el ciclo reproductivo estuvo regulado por la estación más adecuada, en la que las larvas pudieron alimentarse con temperatura favorable.

En los estadios de madurez y desove se observó que la gametogénesis continuaba, con la presencia de ovocitos en desarrollo. En *Argopecten irradians* también se han observado ovocitos de diferentes tamaños en la gónada de un individuo a lo largo del período de desarrollo gonádico así como en el estadio de madurez; estas variaciones en el tamaño de los ovocitos pueden deberse a diferencias temporales en el inicio de la fase de crecimiento citoplasmático, lo cual puede ser influenciado por la cantidad de nutrientes canalizados a la gónada (Sastry, 1979). Aunque se observaron simultáneamente diferentes tamaños de ovocitos en un organismo, en general, los miembros de la población presentaron una sincronía durante el desarrollo y madurez así como en la época reproductiva.

En el desove, después de que los gametos fueron liberados, los folículos se observaron distendidos y parcialmente vacíos, con gametos maduros y en otros casos con gametos en desarrollo temprano, por lo que el desove no se presentó de manera completa. Esto puede ser el inicio de un ciclo gonádico corto, en donde los organismos pasan directamente después del desove y posdesove a un estadio

de desarrollo, sin pasar por el estadio de indiferenciación. El incremento del tamaño de los ovocitos durante el desove se debió a que el desarrollo continuaba en algunos folículos y los ovocitos sin fagocitar continuaron creciendo.

En invertebrados, como los equinoideos, asteroideos y platelmintos, el desarrollo de la gónada continua durante el desove, con una intensa actividad bioquímica de síntesis de RNA, de tal forma que después del desove los ovocitos crecen hasta su máximo y se completan las divisiones meióticas (Giese y Pearse, 1974).

Se han observado desoves incompletos y ciclos reproductivos cortos en varias especies del género *Pinctada*, como *P. mazatlanica* (Sevilla, 1969; Saucedo *et al.*, 2002b), *P. albina* y *P. maxima* (Tranter, 1958c; Rose *et al.*, 1990), así como en la población de *P. sterna* de la Bahía de La Paz (Saucedo y Monteforte, 1997). El que este ciclo gonádico corto alcance su objetivo final depende de que las condiciones ambientales lo permitan.

En la Laguna Ojo de Liebre se observaron organismos indiferenciados después del posdesove, así como una rápida proliferación de fagocitos y granulocitos entre los gametos residuales. Aquéllos rodean y destruyen dichos gametos reabsorbiéndolos (Gaspar-Soria *et al.*, 2002), como una estrategia para reciclar nutrientes (proteínas y lípidos de la yema), la cual es una importante contribución a la recuperación de energía después de la estación reproductiva (Narvarte y Kroeck, 2002). Por otro lado, esta energía reciclada puede ser destinada para su utilización por los nuevos ovocitos de un ciclo corto (Saucedo *et al.*, 2002b), ciclo que en esta población no se presentó, porque las condiciones ambientales, principalmente la temperatura, no fueron las adecuadas. Ya que cuando se observaron los ovocitos residuales la temperatura fue de las más bajas registradas.

La geografía de la Península de Baja California presenta diferentes condiciones ambientales para las especies: subtropical a templado del lado del Pacífico mexicano y tropical del lado del Golfo de California; de tal forma que la península ocasiona un aislamiento, funcionando como una barrera para las poblaciones naturales que se presentan en ambos lados, por lo que se debe

esperar una diferencia genética entre estas poblaciones, las cuales responden de manera diferente a las condiciones ambientales de cada localidad (Cruz *et al.*, 2000).

Esta variación genética entre poblaciones de moluscos afecta la capacidad de responder a cambios en el ambiente (aunque éstos sean relativamente pequeños) o a demandas fisiológicas, ya que la regulación del metabolismo está parcialmente controlada por la catálisis y las propiedades regulatorias de las enzimas. Las diferencias fisiológicas y bioquímicas de las poblaciones no se reflejan en diferencias morfológicas, pero sí en el fenotipo fisiológico, el cual resulta de la interacción entre el ambiente y el metabolismo. Se conoce que las enzimas de los moluscos son genéticamente variables, ya que la frecuencia de los alelos representa una respuesta genética a las variaciones ambientales. Se ha observado una variabilidad geográfica en la frecuencia de las formas alélicas enzimáticas de *Anadara trapezia*, *Mytilus californianus* y *Crassostrea gigas*, y estas diferencias pueden ocurrir en distancias de unos pocos metros a kilómetros, relacionadas con las diferencias ambientales espaciales (Koehn, 1983; Román *et al.*, 2002). Dichas diferencias se reflejan en la temperatura de inducción del desove entre poblaciones, por ejemplo, *Crassostrea virginica* desova a 17°C, 20°C y 25°C en el norte, centro y sur de su distribución, respectivamente. Por otro lado, el efecto de la temperatura en diferentes latitudes optimiza indirectamente la supervivencia de las larvas como un mecanismo de sincronización. De tal forma que se han observado de manera general estrategias reproductivas a lo largo de gradientes latitudinales, concluyendo que los climas fríos (latitudes altas) contienen organismos con un desove sincronizado por año, en verano (Giese y Pearse, 1974), en climas templados pueden existir dos picos de desove, y en los climas tropicales hay desoves continuos a lo largo de todo el año, ya que las fluctuaciones estacionales son pocas, aunque la reproducción no tiene la misma intensidad a lo largo del año (Sastry, 1979; Mackie, 1984),

Así, en *P. sterna* hay diferencias entre las poblaciones del Golfo de California y la de la costa occidental de la península, presentándose una relación entre el ciclo reproductivo y la latitud. Las poblaciones del Golfo de California

presentan un ciclo reproductivo asincrónico, generalmente con dos picos de desove, además de diferencias latitudinales entre los intervalos de temperatura para el desove: Bahía de Los Angeles de 14 °C a 20 °C (Díaz y Bückle 1996); Guaymas, Son., de 16.6 °C a 28 °C (Arizmendi, 1996); y en la Bahía de La Paz de 22 °C a 23 °C (Saucedo y Monteforte, 1997). Mientras que en la población de la Laguna Ojo de liebre se determinó un ciclo reproductivo sincrónico.

En el género *Pinctada* se ha observado que el período reproductivo es más restringido en latitudes altas, siendo más corto y tipificado por una sola época de reproducción en verano, con lo que resulta una alta sincronización del desove; mientras que en latitudes bajas el período reproductivo es más largo y se caracteriza por dos o más épocas de reproducción y la periodicidad reproductiva no está confinada a una estación del año (Tranter, 1958a,b,c; Rose *et al.*, 1990).

La variabilidad en la sincronización del ciclo gametogénico entre poblaciones, en los estadios de madurez y desove, así como en el promedio del diámetro de los ovocitos, se ha observado en *Ensis macha*, *Tagelus dombeii* y *Mulinia edulis*. De tal forma que la variabilidad geográfica encontrada en los ciclos gametogénicos de diferentes poblaciones es un aspecto muy importante que debe ser tomado en cuenta para los planes de manejo de las diferentes especies, ya que la sincronía y duración del ciclo gametogénico, así como el número de ciclos en el año, resulta característico de poblaciones concretas, como una respuesta adaptativa a las diferencias geográficas de temperatura y producción de alimento (Avellanal *et al.*, 2002).

La creciente importancia del valor de las ostras perleras ha promovido su cultivo, lo que involucra la necesidad de conocer las condiciones de reproducción, así como la obtención de semilla. Así pues, resulta necesaria la producción de oocitos y espermatozoides de buena calidad con el fin de obtener larvas fuertes y viables, para lo cual resulta esencial comprender el comportamiento estacional de ostras provenientes de poblaciones naturales. Esta información puede ser utilizada en el futuro para determinar las necesidades básicas de reproducción en el laboratorio (Saucedo *et al.*, 2002a).

De tal forma, se propone que para *P. sterna* la época de captación de semilla del medio, en la Laguna Ojo de Liebre, sea durante la época de reproducción. Es decir, de octubre a abril. Los meses en los que se podrían realizar implantes de núcleos esféricos para la producción de perlas libres es justo cuando la gónada se encuentra vacía, en los meses de noviembre a mayo y finalmente, con los datos obtenidos del comportamiento reproductivo a las diferentes temperaturas registradas, se cuenta con parte de la información requerida para llevar a cabo el acondicionamiento gonádico, con el fin de obtener la semilla en condiciones controladas.

9. CONCLUSIONES

- ◆ *P. sterna* presentó un ciclo reproductivo anual en la Laguna Ojo de Liebre.
- ◆ La época de reproducción, en la Laguna Ojo de Liebre, fue de octubre a abril, en un intervalo de temperatura de 22.8 °C a 17.5 °C.
- ◆ El ciclo reproductivo estuvo influenciado por la temperatura y la disponibilidad de alimento en el medio, induciendo tanto el desarrollo gonádico como el desove.
- ◆ A pesar de que la gónada de *P. sterna* es difusa, el índice gonádico describió adecuadamente el ciclo reproductivo. Sin embargo, tanto el porcentaje del área folicular como el seguimiento del tamaño de los ovocitos fueron métodos cuantitativos más confiables.
- ◆ Aunque no se encontró evidencia histológica de hermafroditismo, la población presentó protandria.
- ◆ Se encontró una diferencia en el ciclo reproductivo entre las poblaciones de *P. sterna* que anteriormente habían sido estudiadas el Golfo de California con la analizada en la Costa Occidental de la Península de Baja California.

10. RECOMENDACIONES

Se sugiere que el método más adecuado para el estudio sobre la reproducción de ostras perleras es el histológico, ya que nos da certeza sobre la condición de la gónada, el género, así como evidencia de cambio de género en su caso. Dentro de los métodos cuantitativos utilizados en el presente trabajo, se recomienda utilizar tanto el porcentaje del área folicular, como el seguimiento del tamaño de los ovocitos, los cuales resultaron ser métodos efectivos y confiables, debido a que las medidas se realizaron directamente sobre la gónada y gametos. Mientras que el índice gónadico, a pesar que explicó lo que estaba ocurriendo en la gónada, presentó limitaciones en cuanto al peso exacto y confiable de la gónada.

Partiendo de que las ostras perleras representan un recurso potencial debido a su aprovechamiento integral, al establecimiento de la biotecnología para su cultivo y producción de perlas; y, con base en las observaciones personales sobre la abundancia de estos organismos en la zona de la Laguna Ojo de Liebre, se recomienda que se inicien proyectos piloto para su aprovechamiento sustentable. Lo cual representaría otra alternativa de fuentes de empleo para la zona.

11. SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

- ◆ Realizar estudios de genética entre poblaciones para determinar la variabilidad entre ellas.
- ◆ Realizar análisis bioquímicos con el fin de establecer cómo se presenta la transferencia de nutrientes entre órganos y su relación con la reproducción.
- ◆ Realizar estudios de la estructura de la población de *P. sterna* en la Laguna Ojo de Liebre; con el fin de determinar su densidad, la estructura de tallas, así como sus patrones de dispersión.
- ◆ Estudiar el ciclo reproductivo de *P. sterna* en poblaciones localizadas en ambientes tropicales.
- ◆ En la Laguna Ojo de Liebre, realizar estudios sobre las zonas de fijación de larvas. Semilla que puede ser utilizada directamente para su cultivo en la zona.
- ◆ Estudiar el ciclo reproductivo en años El Niño y La Niña para establecer su influencia en el ciclo reproductivo.
- ◆ Realizar experimentos en condiciones controladas para determinar las causas que inducen el hermafroditismo y el cambio de género, así como la presencia de hembras en las tallas pequeñas.

12. LITERATURA CITADA

- Arizmendi-Castillo, E. 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**. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. 89 pp.
- Arsenault, D. y J. Himmelman. 1998. Spawning of the Iceland Scallop (*Chlamys islandica* Müller, 1776) in the Northern Gulf of St. Lawrence and its Relationship to Temperature and Phytoplankton Abundance. **The Veliger**. 41(2): 180-185.
- Avellanal, M.; E. Jaramillo; E. Clasing; P. Quijón y H. Contreras. 2002. Reproductive Cycle of the Bivalves *Ensis macha* (Molina, 1782) (Solenidae), *Tagelus dombeii* (Lamarck, 1818) (Solecurtidae), and *Mulinia edulis* (King, 1831) (Mactridae) in Southern Chile. **The Veliger**. 45 (1): 33-44.
- Baqueiro, E.; A. Avilés; J. Masso; M. Muciño; P. Rogers y A. Vélez. 1992. **Manual de métodos de muestreo y evaluación de poblaciones de moluscos y otros recursos bentónicos**. Instituto Nacional de la Pesca. México. 73 pp.
- Bayne, B.L. 1976. Aspects of reproduction in bivalves mollusks. En: M.L. Wiley (ed.). **Estuarine processes**. (pp. 432-448). New York: Academic Press.
- Baron, P. y N. Ciocco. 2001. Reproductive Cycle of the Clam *Tellina petitiana* d'Orbigny, 1846, in Nuevo Gulf (Argentina). **The Veliger**. 44(4): 370-380
- Brockington, S. y A. Clarke. 2001. The relative influence of temperature and food on the metabolism of a marine invertebrate. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 258: 87-99
- Brown, D; B. Campos y H. Urban. 2002. Reproductive cycle of the clams *Semele solida* (Gray, 1828) (Semelidae) and *Gari solida* (Gray, 1828) (Psammobiidae) from Chile. **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 627-634
- Brusca, G. y H. Brusca. 1990. **Invertebrates**. Sinauer. USA. 920 pp.
- Ciocco, N. y A. Gayoso. 2002. Microalgal food of the ribbed mussel *Aulacomya atra* (Molina, 1782) in Golfo Nuevo (Patagonia, Argentina). **Journal of Shellfish Research**. 21 (2): 497-501

- Cruz, P.; C. Rodríguez-Jaramillo y A. Ibarra. 2000. Environment and population origin effects on first sexual maturity of catarina scallop *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842). **Journal of Shellfish Research**. 19(1): 89-93
- Daniel, W. 1994. **Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud**. 3ª. Edición. Ed. Limusa. México. 667 pp.
- De la Cruz-Agüero, J.; M. Arellano-Martínez y V. Cota-Gómez. 1996. Lista sistemática de los peces marinos de las Lagunas Ojo de Liebre y Guerrero Negro, B.C.S y B.C, México. **Ciencias Marinas**. 22 (1): 111-128
- De la Cruz-Agüero, J. y R. Rodríguez-Sánchez. 2000. **COSTAS DE MÉXICO: Auxiliar para georeferir localidades costeras en la Republica Mexicana**. Programa Versión 1.5 y Manual del Usuario. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México.
- Diario Oficial de la Federación. 1939. Referente al decreto de la veda legal permanente de la pesquería de las ostras perleras por el Gobierno Mexicano. Norma Oficial del Gobierno de los Estados Unidos Mexicanos. 2 pp.
- Díaz, A. y L. Bückle. 1996. Ciclo Gonádico de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca: Bivalvia) en Baja California Sur, México. **Ciencias Marinas**. 22(4): 495-509
- Eversole, A. 2001. Reproduction in *Mercenaria mercenaria*. En: Kraeuter, J. y M. Castagna (eds.). **Biology of the Hard Clam**. Cap. 5. (pp. 221-258) Elsevier. Netherlands.
- García-Cuéllar, J.A. 2001. Ciclo reproductivo de la Madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), y su relación con los fenómenos "El Niño" y "La Niña" (1997-1999), en la Isla Espíritu Santo, Baja California Sur, México. **Tesis de Maestría**. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN. 75 pp.
- García-Domínguez, F.; B. Ceballos-Vázquez y A. Tripp-Quezada. 1996. Spawning Cycle of the Pearl Oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), (Pteriidae) at Isla Espíritu Santo, Baja California Sur, México. **Journal of Shellfish Research**. 15(2): 297-303.
- Gaspar-Soria, R.; M. Susana-Pascual y V.H. Fernández-Cortes. 2002. Reproductive Cycle of the Cholga Paleta, *Atrina seminuda* Lamarck, 1819 (Bivalvia: Pinnidae) from Northern Patagonia, Argentina. **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 479-488

- Giese A. y J. Pearse. 1974. Introduction: General Principles. En: Giese A. y J. Pearse (eds.). **Reproduction of Marine Invertebrates**. Vol. I. Cap. 1. (pp. 1-49). Academic Press Inc. USA.
- Grant, A. y P. Tyler. 1983a. The Analysis of Data in Studies of Invertebrate Reproduction. I. Introduction and Statistical Analysis of Gonad Indices and Maturity Indices. **International Journal of Invertebrate Reproduction**. 6: 259-269.
- Grant, A. y P. Tyler. 1983b. The Analysis of Data in Studies of Invertebrate Reproduction. II. The Analysis of Oocyte Size / Frequency Data, and Comparison of Different Type of Data. **International Journal of Invertebrate Reproduction**. 6: 271-283.
- Hernández-Olalde, L. 2001. Inducción a la madurez gonádica de la Madre perla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Mollusca: Pteriidae) mediante control de temperatura y alimentación. **Tesis de Licenciatura**. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 59 pp.
- Herrero-Perézrul, M.D.; H. Reyes-Bonilla y F. García-Domínguez. 1998. Casual hermafroditism in gonochoric *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) (Echinodermata: Holothuroidea) of the southern Gulf of California, México. **Bulletin of Marine Science**. 63(3): 611-615
- Houston, R. 1980. Mollusca. En: Brusca, R. **Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California**. The University of Arizona Press. USA, pp. 130-204
- Humason, G. 1979. **Animal Tissue Techniques**. 4^a Ed. W.H. Freeman & Co. USA. 692 pp.
- Jeffs, A.; B. Dunphy y R. Wells. 2002. Experimental effects of water temperature on the gametogenic development of broodstock in the oyster, *Ostrea chilensis*. **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 743-747
- Keen, M. 1971. **Sea Shells of Tropical West America. Marine Mollusks from Baja California to Perú**. 2nd ed. Stanford University Press. USA. 1064 pp.
- Koehn, R. K. 1983. Biochemical Genetics and Adaptation in Molluscs. En: Wilbur, K. M (ed). **The Mollusca**. Vol. 2. Cap. 9. (pp. 305-330). Hochachka, P. W. Environmental Biochemistry and Physiology. Academic Press. USA.
- Lynch, M.; S. Raphael; L. Mellor; P. Spare y M. Inwood. 1972. **Métodos de Laboratorio**. Ed. Interamericana. México. 1522 pp.

- Luna-González, A.; C. Cáceres-Martínez; C. Zuñiga-Pacheco; S. López-López y B.P. Ceballos-Vázquez. 2000. Reproductive cycle of *Argopecten ventricosus* (Sowerby, 1842) (Bivalvia:Pectinidae) in the Rada del Puerto de Pichilingue, B.C.S., México and its relation to temperature, salinity and food. **Journal of Shellfish Research**. 19(1): 107-112
- Mackie, G.L. 1984. Bivalves. En: Tompa, A.S.; N.H. Verdonk y J. Van Der Biggelaar (eds.). **The Mollusca: Reproduction**. Vol. 7 (pp. 351-418) Londres: Academic Press.
- Millán-Nuñez, R.; E. Ripa-Soleno y L. Aguirre-Buenfil. 1987. Estudio preliminar en la composición y abundancia del fitoplancton y clorofilas en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. **Ciencias Marinas**. 13(1): 30-38.
- Monteforte, M. 1990. Ostras Perleras y Perlicultura: Situación Actual en los Principales Países Productores y Perspectivas para México. **Serie Científica**. Universidad Autónoma de Baja California Sur. México. 1: 13-18.
- Monteforte, M. y M. Cariño. 1992. Exploration and Evaluation of Natural Stocks of Pearl Oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae): La Paz Bay, South Baja California, México. **Ambio**. 21(4): 314-320
- Morales-Alamo, R. y R. Mann. 1989. Anatomical features in histological sections of *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) as an aid in measurements of gonad area for reproductive assessment. **Journal of Shellfish Research**. 8(1): 71-82
- Morse, M. P. y J. D. Zardus. 1997. Bivalvia. En: Harrison, F.W. y A. J. Kohn. (eds.). **Microscopic Anatomy of Invertebrates: Mollusca II**. Vol. 6A. Cap. 2. (pp. 7-118) A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- Muñeton-Gómez, M; M Villalejo-Fuerte e I. Gárate-Lizárraga. 2001. Contenido estomacal de *Spondylus leucacanthus* (Bivalvia: Spondylidae) y su relación con la temporada de reproducción y la abundancia de fitoplancton en Isla Danzante, Golfo de California. **Revista de Biología Tropical**. 49: 2
- Narvarte, M y M. Kroeck. 2002. Intraspecific variation in the reproductive cycle of the tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* (Pelecypoda, Pectinidae), in San Matías Gulf, Patagonia, Argentina. **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 571-576
- Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994. Que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y las sujetas a protección especial, y que establece las especificaciones para su protección y publicación en el Diario Oficial de la Federación el 16 de mayo de 1994.

- Olivera-Bonilla, A. 2002. Efectos de la densidad de siembra de la concha nácar *Pteria sterna* (Gould, 1851) con fines de repoblamiento en la Isla La Gaviota, Baja California Sur, México. **Tesis de Licenciatura**. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 71 pp.
- Ortega, R.A. y A. Castellanos. 1995. **Estrategia para el manejo de la Reserva de la Biósfera El Vizcaíno, B.C.S. México**. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. 131pp.
- Parsons, T.; Y. Maita y C. Lalli. 1984. **A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis**. Pergamon Press: Toronto. 173 pp.
- Poutiers, J.M. 1995. Bivalvos (Acephala, lamellibranchia, pelecypoda). En: W. Fischer; F. Krupp; W. Schneidre; C. Sommer; K.E. Carpenter y V.H. Niem (eds.). **Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico Centro-Oriental: Plantas e Invertebrados**. Vol. I. (pp. 100-222) Roma, Italia.
- Pérez-Estrada, C. 2000. Descripción anatómica e histológica de la concha nácar *Pteria sterna*, Mollusca: Pteriidae. **Tesis de Licenciatura**. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 79 pp.
- Rangel-Dávalos, C; E. Acosta-Salmón y E. Martínez-Fernández. 2000. Propuesta preliminar para la recuperación de las poblaciones de Concha Nácar (*Pteria sterna* Gould, 1851) en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. En: Aburto-Oropeza O. Y C. Sánchez-Ortiz (eds.). **Recursos Arrecifales del Golfo de California. Estrategias de Manejo para las Especies Marinas de Ornato**. (pp. 95-106). Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Rangel, C. y J. Chávez. 1994. **Desarrollo Científico y Tecnológico del Cultivo de la Madre perla y la Concha nácar**. SEPESCA/UABCS. 104 pp.
- Rodríguez-Astudillo, S.; M. Villalejo-Fuerte; F. García-Domínguez y R. Guerrero-Caballero. 2002. Biochemical composition of *Spondylus leucacanthus* Broderip, 1833 (Bivalvia : Spondylidae) and its relationships with the reproductive cycle at Isla Danzante, Gulf of California, México. **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 757-762
- Román, G.; M. Campos; J. Cano; C. Acosta; P. Iglesias y O. García. 2002. Reproductive and reserve storage cycles in *Aequipecten opercularis* (L., 1758) in Galicia, NW Spain. **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 577-584
- Rose, R.; R. Dybdal y S. Harders. 1990. Reproductive cycle of the Western Australian Silverlip Pearl Oyster *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteriidae). **Journal of Shellfish Research**. 9(2): 261-272

- Sarur-Zanatta, J.; R. Millán-Nuñez; C. Gutiérrez-Sigala y C. Mattoz-Sheahen. 1984. Diversidad y similitud de tres zonas con diferente tipo de sustrato, en Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México. **Ciencias Marinas**. 10(2): 169-174
- Sastry, A. 1979. Pelecypoda (Excluding Ostreidae). En: Giese, A. y J. Pearse (eds). **Reproduction in Marine Invertebrates**. Vol. 5. (pp. 113- 292) Academic Press. USA.
- Saucedo-Lastra, P. 1995. Crecimiento, Relaciones Alométricas y Reproducción de las Ostras Perleras *Pinctada mazatlanica* y *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae) Bajo Condiciones de Repoblamiento en El Merito, Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. **Tesis de Maestría**. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN. 101 pp.
- Saucedo, P. y M. Monteforte. 1997. Breeding Cycle of Pearl Oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* in Bahía de La Paz, South Baja California, México. **Journal of Shellfish Research**. 16 (1): 348-349
- Saucedo, P.; I. Racotta; H. Villareal y M. Monteforte. 2002a. 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. **Journal of Shellfish Research**. 21(1): 127-135
- Saucedo, P.; C. Rodríguez-Jaramillo y M. Monteforte. 2002b. Microscopic anatomy of gonadal tissue and specialized storage cells associated with oogenesis and spermatogenesis in the Calafia Mother-Of-Pearl Oyster, *Pinctada mazatlanica* (Bivalvia: Pteriidae). **Journal of Shellfish Research**. 21(1): 145-155
- Sevilla, M. L. 1969. Contribución al Conocimiento de la Madre Perla *Pinctada mazatlanica* (Hanley 1845). **Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural**. México. 30: 223-262
- Schejter, L.; C. Bremec; R. Akselman; D. Hernández y E. Spivak. 2002. Annual feeding cycle of the Patagonian scallop *Zygochlamys patagonica* (King and Broderip, 1832) in reclutas bed (39°S-55°W), Argentine Sea. **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 549-555
- Sokal, R. y F. Rohlf. 1979. **Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica**. H. Blume Ediciones. España. 832 pp.
- Tirado, C. y C. Salas. 1998. Reproduction and fecundity of *Donax trunculus* L., 1758. (Bivalvia: Donacidae) in the littoral of Málaga (Southern Spain). **Journal of Shellfish Research**. 17(1): 169-176

- Tirado, C; C. Salas y J. López. 2002. Reproduction of *Callista chione* L., 1758 (Bivalvia: Veneridae) in the litoral of Málaga (Southern Spain). **Journal of Shellfish Research**. 21(2): 643-648
- Tranter, D. J. 1958a. Reproduction in Australian Pearl Oysters (Lamellibranchia) I. *Pinctada albina* (Lamarck). Primary Gonad Development. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**. 9(1): 135-143
- Tranter, D. J. 1958b. Reproduction in Australian Pearl Oysters (Lamellibranchia) II. *Pinctada albina* (Lamarck). Gametogenesis. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**. 9(1): 144-158
- Tranter, D. J. 1958c. Reproduction in Australian Pearl Oysters (Lamellibranchia) III. *Pinctada albina* (Lamarck). Breeding Season and Sexuality. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**. 9: 191-216
- Tranter, D. J. 1958d. Reproduction in Australian Pearl Oysters (Lamellibranchia) IV. *Pinctada margaritifera* (Linnaeus). **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**. 9(4): 509-524
- Tranter, D. J. 1959. Reproduction in Australian Pearl Oysters (Lamellibranchia) V. *Pinctada fucata* (Gould). **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**. 10(1): 45-56
- Trego, K.D. 1999. A population of the bivalve *Pteria sterna* in Carlsbad Lagoon, California. **Festivus**. 31(9): 97
- Villalejo-Fuerte, M; F. García-Domínguez y R Ochoa-Baez. 1995. Reproductive Cycle of *Glicymeris gigantea* (Reeve, 1843) (Bivalvia: Glicymeridae) in Bahía Concepción, Baja California Sur, México. **The Veliger**. 38: 126-132
- Villalejo-Fuerte, M; P. Ceballos-Vázquez y F. García-Domínguez. 1996. Reproductive Cycle of *Laevicardium elatum* (Sowerby, 1833) (Bivalvia: Cardiidae) in Bahía Concepción, Baja California Sur, México. **Journal of Shellfish Research**. 15: 741-745
- Zuñiga-Pacheco, C. 1998. Descripción Anatómica e Histológica de la Madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Mollusca: Pteriidae). **Tesis de Licenciatura**. UABCS. México. 78 pp.

13. ANEXOS

Anexo I

Proceso de inclusión en parafina (Humason, 1979).

	Tiempo
<i>Deshidratación</i>	
Alcohol 80°	1 hr
Alcohol 96°	1 hr
Alcohol 96°	1 hr
Alcohol 96°	1 hr
Alcohol 100°	1 hr
Alcohol 100°	1 hr
Alcohol 100°	1 hr
<i>Aclaramiento</i>	
Hemode-alcohol absoluto (1 :1)	15 min.
Hemode	15 min.
<i>Inclusión</i>	
Parafina I	1:30 hrs
Parafina II	2 hrs

Anexo I a**Tinción de Hematoxilina-Eosina (Humason,1979).**

REACTIVOS	CANTIDAD
<i>Carbol-Xilol-Creosota</i>	
Xilol	80 ml
Creosota de la haya	10 ml
Fenol	10 gr
<i>Alcohol Amoniacal</i>	
Alcohol etílico 96°	50 ml
Amoniaco	4-6 gotas
<i>Alcohol ácido</i>	
Alcohol etílico 100°	100 ml
Ácido clorhídrico concentrado	6 gotas
<i>Eosina alcohólica</i>	
Solución Stock I	
Eosina Y	10 gr
Agua destilada	300 ml
Alcohol absoluto	700 ml

Se bate hasta disolver con agua, agregue alcohol; hacer una dilución alcohólica 70° del alcohol etílico del 95°, reserve la porción del agua para disolver el teñido después de agregar el alcohol, esta solución es estable indefinidamente.

Anexo I a**Tinción de Hematoxilina-Eosina** (Humason, 1979).

REACTIVOS	CANTIDAD
<i>Carbol-Xilol-Creosota</i>	
Xilol	80 ml
Creosota de la haya	10 ml
Fenol	10 gr
<i>Alcohol Amoniaco</i>	
Alcohol etílico 96°	50 ml
Amoniaco	4-6 gotas
<i>Alcohol ácido</i>	
Alcohol etílico 100°	100 ml
Ácido clorhídrico concentrado	6 gotas
<i>Eosina alcohólica</i>	
Solución Stock I	
Eosina Y	10 gr
Agua destilada	300 ml
Alcohol absoluto	700 ml

Se bate hasta disolver con agua, agregue alcohol; hacer una dilución alcohólica 70° del alcohol etílico del 95°, reserve la porción del agua para disolver el teñido después de agregar el alcohol, esta solución es estable indefinidamente.

Anexo II

Metodología para la determinación de Clorofilas (Parsons *et al.*, 1984)

- Marcar y etiquetar cada tubo
- Colocar un filtro con tubo con la ayuda de pinzas
- Agregar 10 ml de acetona al 90%
- Moler el filtro con una varilla de vidrio
- Marcar el volumen de acetona y sellar el tubo con papel parafilm
- Dejar en extracción durante 24 horas Aproximadamente en refrigeración y oscuridad
- Recuperar el volumen evaporado y volver a sellar con papel parafilm
- Centrifugar 10-15 minutos a 3,000 RPM
- Leer densidad óptica a 750 nm, 665 nm, 645 nm y 630 nm. (Línea base con acetona al 90%)
- Obtener concentraciones

Para obtener la concentración de Clorofila a

- A las lecturas obtenidas de las densidades ópticas de 665 nm, 645 nm y 630 nm, se les resta la lectura obtenida de la densidad de 750 nm; de tal forma, que estos son los valores que se utilizan para calcular la concentración de Clorofila a.

Anexo III

Organismos fijos en *Eugorgia* sp.

Las características de los 4 organismos fijos a la gorgonia *Eugorgia* sp., se presentan en la tabla VI.

Tabla VI. Talla, género y estadio de desarrollo de los organismos fijos en la gorgonia *Eugorgia*.

Talla (mm)	Género	Estadio
31	macho	desove
35	macho	desove
52	hembra	desove
55	macho	desove