



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**EVALUACIÓN DE LA VENTAJA PRODUCTIVA
Y GRADO DE ESTERILIDAD EN TRIPLOIDES
DE ALMEJA MANO DE LEÓN**
Nodipecten subnodosus (Sowerby 1835)
**COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL CULTIVO
EN EL PARQUE NACIONAL BAHÍA DE
LORETO, GOLFO DE CALIFORNIA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

**PRESENTA
JOSÉ LUÍS RAMÍREZ ÁRCE**

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DE 2009



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 3 del mes de Noviembre del 2009 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

“EVALUACIÓN DE LA VENTAJA PRODUCTIVA Y GRADO DE ESTERILIDAD EN TRIPLOIDES DE ALMEJA MANO DE LEÓN *Nodipecten subnodosus* (Sowerby 1835), COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL CULTIVO EN EL PARQUE NACIONAL BAHÍA DE LORETO, GOLFO DE CALIFORNIA”

Presentada por el alumno:

RAMÍREZ
Apellido paterno

ARCE
materno

JOSÉ LUIS
nombre(s)

Con registro:

B	0	7	1	2	0	4
---	---	---	---	---	---	---

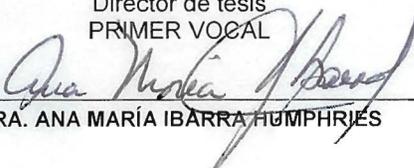
Aspirante al grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL


DRA. ANA MARÍA IBARRA HUMPHRIES

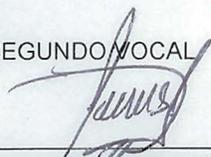
PRESIDENTE


DR. FEDERICO ANDRÉS GARCÍA DOMÍNGUEZ

SECRETARIO


DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ

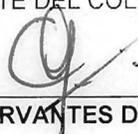
SEGUNDO VOCAL


DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ
2°. DIRECTOR DE TESIS

TERCER VOCAL


MC. ESTEBAN FERNANDO FELIX PICO

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO


DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE



IPN
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 11 del mes Noviembre del año 2009, el (la) que suscribe ING. JOSÉ LUIS RAMÍREZ ARCE alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro B071204 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DRA. ANA MARÍA IBARRA HUMPHRIES y DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ y ceden los derechos del trabajo titulado:

"EVALUACIÓN DE LA VENTAJA PRODUCTIVA Y GRADO DE ESTERILIDAD EN TRIPLOIDES DE ALMEJA MANO DE LEÓN *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835), COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL CULTIVO EN EL PARQUE NACIONAL BAHÍA DE LORETO, GOLFO DE CALIFORNIA"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: aibarra@cibnor.mx marellam@ipn.mx lramirez04@cibnor.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


ING. JOSÉ LUIS RAMÍREZ ARCE

nombre y firma

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABLAS	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Cultivo de la almeja mano de león, <i>Nodipecten subnodosus</i>	4
2.1.1. Sistemas de cultivo utilizados para la almeja mano de león	5
2.1.2. Crecimiento y supervivencia en asociación a condiciones ambientales	6
2.2. Impacto de la acuicultura sobre la diversidad genética	9
2.3. Moluscos triploides en la acuicultura	13
2.3.1. Causas adscritas a la ventaja productiva de los triploides en cultivo	13
2.3.2. Efectos del medio ambiente sobre el rendimiento productivo de triploides	14
3. JUSTIFICACIÓN	20
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVO GENERAL	21
5.1. Objetivos específicos	21
6. METODOLOGÍA	23
6.1. Descripción del área de estudio	23
6.2. Grupos experimentales – conformación y cultivo	24
6.2.1. Origen de reproductores y acondicionamiento para el desove	24
6.2.2. Inducción al desove y a la triploidía	26
6.2.3. Cultivo larvario	28
6.2.4. Cultivo en campo	29
6.2.4.1. Preengorda de semilla	29

6.2.4.1. Engorda	29
6.3. Diseño experimental	30
6.3.1. Caracteres y variables evaluadas	31
6.3.1.1. Crecimiento	31
6.3.1.2. Índices relativos (músculo y gónada)	33
6.3.1.3. Tasa de crecimiento por día	34
6.3.1.4. Supervivencia	35
6.4. Análisis estadísticos de crecimiento, índices y supervivencia	35
6.5. Desarrollo gonádico y grado de esterilidad en triploides certificados	35
6.6. Variables ambientales	36
7. RESULTADOS	38
7.1. Crecimiento absoluto	38
7.2. Tasa de crecimiento	42
7.3. Índice de músculo e índice gonadal	45
7.4. Supervivencia	46
7.5. Desarrollo gonádico y grado de esterilidad en triploides	48
7.6. Variables ambientales	52
7.6.1. Relación entre temperatura y clorofila-a	52
8. DISCUSIÓN	54
8.1. Crecimiento de diploides y triploides	54
8.2. Tasas de crecimiento	62
8.2.1. Diploides vs. Triploides	62
8.2.2. Comparación con otros estudios efectuados en <i>N. subnodosus</i>	63
8.3. Supervivencia	69
8.4. Desarrollo gonádico en diploides y grado de esterilidad en triploides	72
8.5. Triploidía como una alternativa para el cultivo de <i>N. subnodosus</i> en el Parque Nacional Bahía de Loreto	73
9. CONCLUSIONES	78
10. RECOMENDACIONES	79
11. BIBLIOGRAFÍA	80

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Sitios donde se están realizando cultivos de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) en la Península de Baja California.	3
Figura 2. Esquema de producción de embriones triploides mediante el uso de citocalacina-B, inhibiendo la extrusión del segundo cuerpo polar.	15
Figura 3. Localización del área de estudio: Puerto Escondido, en el Parque Nacional Bahía de Loreto del estado de Baja California Sur, México.	25
Figura 4. Microfotografías mostrando huevos de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> recién fecundados, en los cuales se observan el primer y segundo cuerpo siendo expulsados como resultado de la conclusión de la meiosis I y II.	27
Figura 5. Fotografía mostrando juveniles de la almeja mano de león (<i>N. subnodosus</i>), al concluir la etapa de pre-engorda en bolsas de malla dentro de las canastas ostrícolas, e iniciarse las evaluaciones de este trabajo.	30
Figura 6. Módulos de cultivo que conformaron cada réplica durante las evaluaciones en campo, tanto para el grupo triploide como el control diploide.	31
Figura 7. Distancias en la concha consideradas para las evaluaciones del crecimiento en talla.	33
Figura 8. Crecimiento en altura y convexidad de concha en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> durante el periodo de cultivo en Bahía de Loreto.	39
Figura 9. Crecimiento en peso total (vivo) y peso de biomasa o tejidos en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> durante el periodo de cultivo en Bahía de Loreto.	40
Figura 10. Crecimiento en peso de músculo aductor en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> durante el periodo de cultivo en Bahía de Loreto.	42
Figura 11. Tasas de crecimiento y sus intervalos de confianza para longitud, altura y convexidad de la concha, en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> .	43

Figura 12.	Tasas de crecimiento y sus intervalos de confianza para peso total, peso de biomasa y peso de músculo aductor, en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> .	44
Figura 13.	Índices de músculo y gonadal en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> durante el periodo de cultivo en que se evaluaron estos índices en Bahía de Loreto.	46
Figura 14.	Supervivencia en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> , estimada entre periodos de evaluación del cultivo en Bahía de Loreto.	47
Figura 15.	Estadios de desarrollo gonádico encontrados en diploides de la almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> en el periodo de evaluación.	49
Figura 16.	Estadio de desarrollo gonádico encontrado en triploides de la almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> en el periodo de evaluación.	50
Figura 17.	Microfotografías de la porción femenina de la gónada de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> diploide y triploide a los 406d de cultivo	51
Figura 18.	Variables ambientales de temperatura y clorofila-a promedio registradas en Bahía de Loreto durante el periodo de evaluación de 16 meses de cultivo.	53
Figura 19.	Relación inversa de la temperatura y clorofila-a observadas durante el presente estudio en Bahía de Loreto.	53
Figura 20.	Relación entre los incrementos absolutos en peso total por periodo para diploides y triploides de <i>N. subnodosus</i> con las variables ambientales registradas a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto.	55
Figura 21.	Relación entre los incrementos absolutos en peso de biomasa y de músculo aductor por periodo para diploides y triploides de <i>N. subnodosus</i> con las variables ambientales registradas a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto.	57
Figura 22.	Relación entre los incrementos absolutos en peso de músculo aductor por periodo para diploides y triploides de <i>N. subnodosus</i> con las variables ambientales registradas a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto.	60
Figura 23.	Relación entre los incrementos absolutos en peso de biomasa por periodo para diploides y triploides de <i>N. subnodosus</i> con las variables ambientales registradas a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto.	61

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Ventajas en crecimiento obtenidas en organismos triploides en comparación con diploides de diferentes grupos de moluscos de importancia comercial.	16
Tabla 2. Fechas en las que se realizaron las evaluaciones de crecimiento, supervivencia, obtención de músculos y gónadas para análisis histológicos, así como ajuste de densidades.	32
Tabla 3. Medias de los diferentes caracteres de crecimiento, evaluados en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> en Bahía de Loreto. Promedios de meses de evaluación y medias por caracter al final del estudio.	41
Tabla 4. Medias de los índices, evaluados en diploides y triploides de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> en Bahía de Loreto. Promedio de meses de evaluación y medias por caracter al final del estudio.	45
Tabla 5. Número promedio de ovocitos vitelogénicos y posvitelogénicos por acino en organismos triploides y diploides a la edad de primera madurez gonádica del grupo control diploide en la almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> .	48
Tabla 6. Tasas de crecimiento con sus intervalos de confianza (IC) en biomasa y en músculo considerando únicamente el primer año, o hasta los 351 días de cultivo.	62
Tabla 7. Crecimientos registrados en altura de concha en milímetros y las tasas estimadas aritméticamente por día, en la almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> cultivada en diferentes sitios de Baja California Sur, México.	64
Tabla 8. Temperaturas superficiales y concentración de clorofila-a mínimas y máximas, registrados mediante imagen de satélite, de 1998 al 2007 en Bahía Magdalena y Laguna Ojo de Liebre en las costas del Pacífico, y Bahía de La Paz y Bahía de Loreto en las costas del Golfo de California.	66
Tabla 9. Porcentajes de triploidía y supervivencia obtenida de larva-D hasta la última evaluación en el presente estudio.	75

RESUMEN

La almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus*, es el bivalvo más grande de la familia Pectinidae, se distribuyen en las costas del Pacífico mexicano, y debido a su alta tasa de crecimiento y valor comercial, se considera una especie atractiva para la acuicultura. La triploidía es una biotecnología que se utiliza para incrementar la producción de moluscos bivalvos en corto tiempo, ya que los moluscos triploides generalmente presentan un mejor crecimiento comparado con los diploides, adscrito principalmente a que son parcial o totalmente estériles, por lo que su esfuerzo reproductivo es nulo o reducido, minimizando además el impacto genético por la liberación de gametos hacia las poblaciones naturales de su misma especie. Sin embargo, esta ventaja en crecimiento de los triploides no solo depende de la esterilidad, sino también del sitio de cultivo y las condiciones ambientales. El objetivo de este estudio fue definir si el cultivo de organismos triploides de la almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* mantenida en un sistema de cultivo en suspensión instalado en el Parque Nacional Bahía de Loreto, B.C.S., permite realizar cultivos de mayor rendimiento que el de diploides, y simultáneamente de bajo impacto genético asociado a una alta esterilidad. Para la realización de este estudio se utilizaron semillas diploides y triploides producidas a partir de reproductores silvestres colectados en Bahía de Loreto, B.C.S. y mantenidos en un sistema de cultivo en suspensión, en la misma localidad. Se evaluó el crecimiento, supervivencia y el desarrollo gonádico de organismos de ambas ploidías durante un periodo de 16 meses (abril de 2008 hasta agosto de 2009). La supervivencia promedio mensual fue alta para ambas ploidías (97% para ambos grupos). El análisis histológico mostró que los organismos triploides presentaron una esterilidad total durante los 16 meses de estudio, demostrando que su uso no presenta un posible impacto genético sobre la población nativa en Bahía de Loreto. Dentro del grupo de los organismos diploides, el inicio del desarrollo gonádico comenzó a principios de julio del 2009, a los 406 días de cultivo, y el 50% de los organismos alcanzaron los estadios de desarrollo avanzado, de madurez y de desove en agosto del 2009 (a los 476 días de cultivo). Los resultados obtenidos mostraron una superioridad del grupo de almejas triploides

en el crecimiento de todos los caracteres evaluados. La mayor diferencia en crecimiento fue en el músculo aductor, el cual mostró una superioridad del 70% respecto al grupo diploide a los 476 días de cultivo. La superioridad en el crecimiento de los triploides indica estar asociada en una primera instancia a las características ambientales de Bahía de Loreto, ya que en el análisis de medias por edad, esta superioridad ocurrió mucho antes del inicio de desarrollo gonádico de los organismos diploides, en octubre del 2008 (186 días de cultivo), y durante periodos de baja disponibilidad de alimento y altas temperaturas. Sin embargo, un mayor crecimiento en biomasa y músculo de los triploides en comparación con los diploides ocurrió a partir de abril de 2009 (351 días de cultivo) alcanzando diferencias significativas en junio de 2009 (406 días de cultivo). Debido a que abril fue un mes en que en los diploides aun no se observó evidencia histológica de un desarrollo gonádico, pero correspondió al periodo justo antes de que se observara la primera madurez sexual en 50% de los diploides, no es posible descartar que el mayor crecimiento de los triploides a partir de abril haya sido consecuencia parcial del almacenamiento y posterior desvío de energía para el desarrollo gonadal en los diploides.

En conclusión, este estudio ha demostrado que la utilización de organismos triploides de almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus*, permite realizar cultivos con un mayor rendimiento productivo que el alcanzado con organismos diploides, y a su vez la esterilidad total demostrada durante el periodo de estudio en los triploides cultivados en el Parque Nacional Bahía de Loreto indica que el uso de triploides evitará generar un impacto genético de organismos cultivados sobre la población silvestre residente en el área.

Palabras clave: áreas-protegidas, triploidía, esterilidad, crecimiento, *Nodipecten subnodosus*

ABSTRACT

The lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus*, is the largest bivalve species of the Pectinidae family occurring in the Baja California Peninsula coasts. It is an attractive species for aquaculture because of its larger growth rate as well as its commercial value. Triploidy is a biotechnology utilized to increase aquaculture production in several mollusks, as triploid bivalves generally have a faster growth rate than diploids. The triploid advantage in growth has been ascribed to the sterility induced by the triploid condition resulting in a decreased reproductive effort in triploids, and therefore the utilization of the energy surplus for growth. However, the triploid advantage in growth is also associated with the grow-out environment, and not only with sterility. In this research diploid and triploid lion-paw scallops (*Nodipecten subnodosus*) were evaluated to establish if triploid scallops presented a production advantage over diploid scallops when grown at a National Park, 'Parque Nacional Bahía de Loreto', an area on the Gulf of California coasts of the Baja California Peninsula. The objective was to define if the culture of triploid scallops in this National Park allows for higher yields than those obtained when using diploid scallops, and at the same time if the utilization of triploid scallops could result in avoiding the expected genetic impact of spat produced through aquaculture when it is fertile and can contribute gametes to the wild populations. Growth, survival, and gonad development of diploid and triploid lion-paw scallops were evaluated during 16 months, from April 2008 to August 2009. Triploidy was induced at the fertilization stage utilizing wild spawners collected from Bahía de Loreto. The results indicate that triploid lion-paw scallops grew larger for all grow traits evaluated, with the largest superiority of triploids over diploids seen for growth in adductor muscle, which was found to weight 70% more in triploids than diploids. Survival was the same for both ploidy groups (97%). Triploid scallops did not show any gonad development during the 16 months of evaluation, therefore being 100% sterile. Diploid scallops reached their first maturity between 406 and 476 days of culture, corresponding with beginning of July and August of 2009, with approximately 50% of diploid scallops presenting stages of advanced gonad

development, maturity and spawn. The growth superiority of triploids appears to be associated in a first instance with the stressful environmental conditions present at Bahía de Loreto, as the analyses of means at each age indicated that triploids were larger than diploids before any evidence of gonad growth and maturation was seen among diploids, in October 2008 (186d of culture), when primary productivity was very low and temperatures were high. However, the sterility in triploids might also be causing their growth superiority later in the life cycle, because a largest biomass and muscle growth of triploids in contrast with diploids was seen from April 2009 onwards (351d of culture), reaching significant differences in June 2009 (406d of culture). April was a month when diploids had not shown yet any gonad development but was before 50% of them reached their first maturity, indicating that any acquired energy might have been deviated and stored for later transfer to gonad development in diploids.

In conclusion, this research has demonstrated that using triploid lion-paw scallops (*Nodipecten subnodosus*) would allow for higher yield aquaculture than when using diploids. Furthermore, the 100% sterility found for triploids grown at the National Park Bahía de Loreto indicates that the utilization of triploids is expected to result in a null genetic impact of cultured organisms in this area with a wild-native population residing there.

Key-words: protected-areas, triploid, sterility, growth, *Nodipecten subnodosus*

1. INTRODUCCIÓN

La almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* (Sowerby 1835), es el pectínido más grande de los tres de importancia comercial (almeja catarina y almeja voladora) que existen en las costas de Baja California Sur, México y representa una de las pesquerías más importantes (Massó-Rojas et al., 2000). Esta especie se distribuye desde la laguna Ojo de Liebre hasta las costas de Perú, incluyendo el Golfo de California (Keen, 1971), aunque otros autores limitan la distribución de esta especie a ambas costas de la Península de Baja California, con una especie diferente *Nodipecten arthriticus* (Reeve, 1853) posiblemente ocurriendo al sur de la Península de BC (Smith, 1991).

Aunque *N. subnodosus* se localiza en ambas costas de la península de Baja California, en la laguna Ojo de Liebre es el único sitio en México en donde se realiza una comercial, ya que su abundancia en otros cuerpos de agua a lo largo de ambas costas de la península es baja (Massó-Rojas et al., 2000). Para la década de los 90's, la pesquería de la almeja mano de león, junto con la langosta roja se consolidaron como los pilares de la actividad económica para el sector pesquero de la ciudad de Guerrero Negro, BCS. Derivado de la importancia que representa el recurso mano de león para este sector, se han tomado medidas para la protección y la verificación del cumplimiento de la normatividad pesquera, acuícola y ambiental en las lagunas Ojo de Liebre y Guerrero Negro, lo que ha permitido el aumento de la producción de 77.8 toneladas en 1998 a 237 toneladas (en peso desconchado) en 2007 (SAGARPA, 2008).

Aunque la producción por pesquería ha aumentando en los últimos años, esta sólo se limita al periodo de abril a junio, por lo que la disponibilidad del recurso en el mercado es limitada. Debido a lo anterior, así como a su alto valor comercial (15-18 dólares por Kg de músculo) y a su rápido crecimiento reportado en condiciones de cultivo (0.24-0.25 mm día⁻¹ (Félix-Pico et al., 1999; Racotta et al., 2003), diversas instituciones públicas y privadas están realizando esfuerzos para el desarrollo de la acuicultura de

esta especie. Actualmente se tienen registradas seis unidades de producción con permiso para el desarrollo de la acuicultura de esta especie en la Península de Baja California (Fig. 1), cinco de las cuales se encuentran en el litoral del Pacífico, muy cerca de los cuerpos de agua que forman parte de la Reserva de la Biosfera del Vizcaíno. La sexta unidad de producción, la Cooperativa 'Mujeres del Golfo', se encuentra localizada en la costa occidental del Golfo de California, dentro del Parque Nacional Bahía de Loreto (SAGARPA, 2008). Sin embargo, a pesar de los esfuerzos para incrementar la producción acuícola de esta especie, ésta ha alcanzado hasta el momento, sólo niveles bajos.

La producción de moluscos bivalvos puede ser incrementada de manera alternativa y en poco tiempo a través de la aplicación de biotecnologías, como es el caso del uso de triploides, ya que éstos generalmente presentan un mejor crecimiento que los diploides en un mismo tiempo de cultivo (Allen & Downing, 1986; Allen & Downing, 1991; Beaumont & Fairbrother, 1991). Este mejor crecimiento de los organismos triploides se adscribe a su esterilidad, la cual puede ser parcial o total (Guo & Allen, 1994; Allen et al., 1986; Komaru & Wada, 1989; Kiyomoto et al., 1996; Utting et al., 1996; Ruiz Verdugo et al., 2000; 2001; Maldonado-Amparo et al., 2004). Esta esterilidad de los organismos también tiene la ventaja de no generar un impacto genético sobre las poblaciones silvestres, por lo que se ha propuesto el uso de estos organismos para actividades acuícolas (Ibarra, 2006; Triantafyllidis et al., 2007).

Por otro lado, se ha comprobado también que el mayor crecimiento de los organismos triploides en comparación con los diploides, depende de las condiciones ambientales en las que se realiza el cultivo (Shpigel et al., 1992; Ascencio-Michel, 2008). En este sentido, en un estudio realizado anteriormente con esta misma especie en el Estero de Rancho Bueno ubicado en Bahía Magdalena, B.C.S., México no se encontraron diferencias significativas en crecimiento entre triploides y diploides a pesar de haber observado una esterilidad prácticamente total en las almejas triploides (Maldonado-Amparo et al., 2004). Esta falta de ventaja en crecimiento fue atribuida a la alta disponibilidad de alimento que existe en ese sitio, así como a la estrategia reproductiva preponderante en el sitio.

El presente trabajo, el cual forma parte del proyecto SEMARNAT Clave 23397, está dirigido a definir si el uso de organismos triploides de la almeja mano de león permite realizar cultivos de alto rendimiento productivo y de bajo impacto genético, para el desarrollo sustentable de la acuicultura de esta especie en el Parque Nacional Bahía de Loreto, BCS.

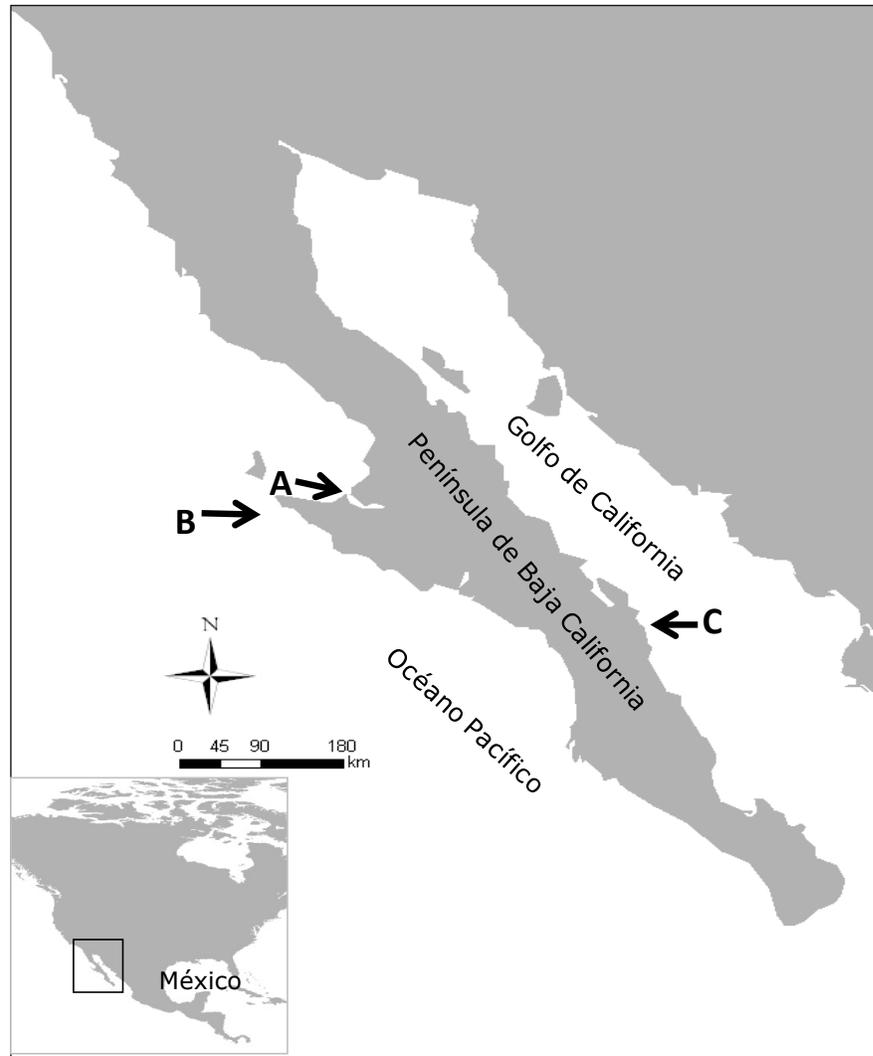


Figura 1. Sitios donde se están realizando cultivos de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) en la Península de Baja California, México. A) laguna de Guerrero Negro, B) Bahía Tortugas, C) Parque Nacional Bahía de Loreto (SAGARPA BCS, 2008).

2. ANTECEDENTES

2.1. Cultivo de la almeja *Mano de León*, *Nodipecten subnodosus*

La producción de esta especie por acuicultura hasta el 2009 ha sido baja. Por ejemplo, para el estado de Baja California Sur sólo se tienen registros de una producción de 1,988 Kg de peso vivo en el 2004, aunque para el año 2006 la producción reportada se incrementó a 9,300 Kg de peso vivo (SAGARPA, 2008). Tales producciones representan tan solo el 1.5% y 4.1% de lo obtenido anualmente por la pesquería de esta especie. De acuerdo con el Biol. Antonio Favela (com. personal, asesor técnico de la empresa Aquadron), los principales problemas con que se encuentran los productores para lograr la producción por acuicultura de esta especie son, la falta de semilla y el difícil acceso al financiamiento gubernamental, así como a la falta de organización del sector social dedicado a la acuicultura de este recurso.

Debido a la importancia comercial de esta especie y a la baja producción por acuicultura, el sector académico ha estado desde hace algunos años realizando diversos estudios, encaminados a evaluar su crecimiento y mejorar las metodologías para su cultivo en la Península de BCS. Sin embargo, los resultados en este aspecto han sido contrastantes y dependientes del sitio de cultivo. Por ejemplo, considerando un periodo de un año de cultivo y en sitios localizados en las costas del Pacífico, García-Domínguez et al. (1992) reportaron una tasa de crecimiento de la concha de 0.21 mm día^{-1} en la laguna Ojo de Liebre; en la laguna Guerrero Negro Arellano-Martínez (datos no publicados) encuentran $0.196 \text{ mm día}^{-1}$; en Bahía Magdalena, Morales-Hernández & Cáceres-Martínez (1996) así como Racotta et al. (2003) reportaron $0.25\text{-}0.26 \text{ mm día}^{-1}$. Por otro lado, en sitios de cultivo localizados en las costas del Golfo de California se ha reportado mayor variación. Por ejemplo, Félix-Pico et al. (1999) reportaron 0.24 mm día^{-1} en Bahía de Loreto, mientras que en Bahía de La Paz, Barrios-Ruiz et al. (2003) reportaron 0.14 mm día^{-1} y en Bahía Juncalito Villalejo-Fuerte et al. (2004) reportan 0.13 mm día^{-1} . Las variaciones

reportadas pueden deberse a varios factores, entre ellos densidades de cultivo, origen de la semilla utilizada y las condiciones ambientales imperantes en cada sitio evaluado.

2.1.1. Sistemas de cultivo utilizados para la almeja mano de león

Estudios encaminados a definir la metodología para el cultivo de la almeja mano de león han propuesto que la mejor densidad inicial de siembra es de 3000 semillas con tallas de entre 3 y 5 mm por metro cuadrado (Koch et al., 2005). Así mismo, se recomienda que la pre-engorda de la semilla se realice en canastas ostrícolas suspendidas, hasta que alcance una talla de 5-7 cm y que su posterior engorda para lograr la talla comercial, se lleve a cabo en costales sobre el fondo marino, en lugares con corrientes moderadas y fondos de arena gruesa y concha, manteniendo densidades de un 60% de cobertura del área, desde que ésta alcanza una talla de 2 cm de altura de concha hasta su talla comercial (Quintero-Ojeda, 2003). También se ha establecido que la mejor época de siembra en la laguna de Guerrero Negro, B.C.S. es a finales de verano, para realizar la cosecha dos años después, a finales de primavera o principios de verano. Koch et al. (2005) recomiendan que la cosecha se lleve a cabo antes de que se registre un aumento de la temperatura del agua, lo cual puede resultar en una disminución del tamaño del músculo aductor y altas mortalidades asociadas al esfuerzo reproductivo y desove. Utilizando esta metodología de cultivo se ha reportado un mejor crecimiento, menor mortalidad y un tamaño de músculo aductor mayor a 30 g en un periodo de 30 meses de cultivo (Osuna-García, 2006). Sin embargo, debido a que la utilización del método de cultivo antes descrito conlleva altos costos asociados al manejo de los costales, algunas cooperativas de producción acuícola ubicadas en la laguna Guerrero Negro utilizan la técnica de cultivo propuesta por Masón-Suástegui & Osuna García (2005), que consiste en pre-engordar la semilla en canastas ostrícolas hasta que estas alcancen una talla entre 5-7 cm de altura de concha, liberándolas al fondo posteriormente hasta que estas alcancen un peso de músculo aductor entre 40-60 g, en un tiempo aproximado de 24-30 meses. La utilización de esta técnica de cultivo tiene la principal desventaja de no contar con un control sobre los organismos una

vez liberados, exponiéndolos a depredadores y permitiendo que estos se muevan de lugar debido a las corrientes marinas. Otra técnica utilizada por la empresa MARIMEX, S.A. de C.V. ubicada en Bahía Tortugas, BCS es la de cultivo en linternas, con la cual obtienen organismos de una talla de 10 cm de altura de concha en 14 meses, que es la talla de comercialización en la presentación “entera (con concha) fresca” (Philippe Danigo, com. personal, director de la empresa Marimex). Finalmente, es importante señalar que la técnica utilizada para el cultivo también deberá estar acorde a las condiciones del sitio donde se realice. Por ejemplo, sitios no arenosos, no son aptos para cultivos de fondo, por lo que este deberá realizarse en un sistema de cultivo en suspensión durante todo el ciclo de crecimiento.

2.1.2. Crecimiento y supervivencia en asociación a condiciones ambientales

La temperatura y la disponibilidad de alimento son los dos factores principales que controlan el crecimiento en los moluscos bivalvos (MacDonald & Thompson, 1986). Sin embargo, estos dos factores interactúan en forma inversa entre ellos en áreas tropicales como el Golfo de California, donde el decremento de las temperaturas en invierno conlleva surgencias e incrementos en la productividad primaria, mientras que el incremento de las temperaturas en verano resulta en un decremento en la producción primaria por la estratificación de las capas de agua (Thunell et al., 1996; Douglas et al., 2006). Los decrementos en productividad en áreas tropicales se asocian con un menor crecimiento en moluscos (Lodeiros & Himmelman, 2000; Chávez-Villalba et al., 2005; Marcano et al., 2005). Por otro lado, en zonas templadas o frías, incrementos en las temperaturas bajas que caracterizan el invierno (en rangos mucho menores que los observados en áreas tropicales) se asocian a incrementos en productividad primaria, lo cual en conjunto con un incremento en el metabolismo de los moluscos en respuesta a la temperatura resulta en incrementos en crecimiento (Thompson & MacDonald, 2006).

Debido a las variaciones ambientales que caracterizan los sitios de cultivo en áreas subtropicales como las costas del Pacífico de la península de Baja California, Sicard et al. (2006) propusieron que para el cultivo de moluscos bivalvos es importante considerar los rangos de tolerancia térmica de cada especie, conocer las

temperaturas óptimas de crecimiento, y conocer el sitio prospectivo de cultivo, ya que los patrones de variación de temperatura estacional serán uno de los factores limitantes para obtener el mayor rendimiento de la especie. En el caso particular de la almeja mano de león, *N. subnodosus*, González-Estrada (2003) estimó que la temperatura óptima de crecimiento bajo condiciones de laboratorio de juveniles en la laguna Ojo de Liebre es de 22°C. Sin embargo, a la fecha no se ha estudiado la temperatura óptima de crecimiento para otras poblaciones de almeja mano de león, especialmente las del Golfo de California, aunque los rangos de temperatura óptima del crecimiento estimados por González-Estrada (2003) para la población de Ojo de Liebre están en acuerdo con lo observado en diferentes estudios de su crecimiento alrededor de la península de Baja California tanto en las costas del Pacífico como las del Golfo de California. Por ejemplo, semilla derivada de reproductores de Ojo de Liebre y crecida en Bahía Magdalena, presentó un crecimiento continuo durante un periodo de 18 meses (Racotta et al., 2003), sitio ubicado sobre las costas del Pacífico con alta productividad y con temperaturas no mayores a los 26°C (Hernández-Rivas et al., 1993). En contraste, el crecimiento registrado para esta especie en Bahía de Loreto con semilla silvestre de este sitio, mostró una clara estacionalidad, presentándose los mayores incrementos de altura de concha en los meses de abril a junio, cuando se presenta una temperatura de aproximadamente 25°C, y un menor crecimiento a mayores temperaturas (30°C) en los meses de julio a octubre (Félix-Pico et al., 1999).

Por otro lado, mientras que es posible que la temperatura óptima de crecimiento sea muy similar para la población de *N. subnodosus* en Ojo de Liebre y en las poblaciones del Golfo de California, es posible que el rango de tolerancia térmica difiera. De acuerdo a González-Estrada (2003), el límite superior de termotolerancia para la almeja mano de león, *N. subnodosus* de la laguna Ojo de Liebre es de 32°C, aunque las mortalidades asociadas a altas temperaturas pueden iniciarse desde los 27.8°C. Debido a que las temperaturas de verano en el Golfo de California alcanzan valores superiores a los 30°C (Martínez-López et al., 2000) y se mantienen altas por periodos de más de 30 días (Mitchell et al., 2002), el límite superior de termotolerancia para las poblaciones nativas del golfo debe de ser mayor que el

estimado para la población de la laguna Ojo de Liebre. Diferencias en el límite superior de termotolerancia pueden haber sido la causa de lo reportado por Cruz et al. (1998) como 'falta de adaptaciones' para una población de la almeja *Argopecten ventricosus* del Pacífico. Estos autores observaron un crecimiento muy similar entre las dos poblaciones crecidas tanto en el Pacífico como el Golfo de California, pero una mayor mortalidad de organismos originarios de poblaciones del Pacífico trasladadas al Golfo de California con altas temperaturas.

La termotolerancia se asocia directamente con la capacidad de adaptación del metabolismo de los organismos (por su genotipo) como ha sido demostrado en diversas especies. Por ejemplo, en el poliqueto *Arenicola marina*, la capacidad adaptativa al medio entre poblaciones distribuidas en áreas subpolares en Francia y Noruega y hasta el subártico Ruso difieren: las poblaciones subpolares adaptan su metabolismo incrementando el volumen y densidad de las mitocondrias en el tejido muscular, incrementando de esta forma su capacidad de respiración a bajas temperaturas (Sommer & Pörtner, 2002). En el pez *Fundulus heteroclitus* variantes alélicas del gen codificando la enzima glucolítica lactato-deshidrogenasa-B (LDH-B) presentan diferentes actividades cinéticas y se ha demostrado que presentan una frecuencia alélica asociada con la latitud en la que se distribuyen las poblaciones de este pez, y que difieren en promedio por 12°C (Powers & Place, 1978). Tales variantes alélicas han sido a su vez asociadas con mortalidades diferenciales a altas temperaturas para organismos portando uno u otro alelo (DiMichele & Powers, 1991). Similarmente, en el caracol marino *Nucella lapillus* se ha observado un gradiente alélico para la enzima malato-deshidrogenasa (MDH) que varía con la temperatura y humedad en diferentes áreas; existen dos formas alélicas del gen codificando la enzima MDH, y estas formas alélicas varían de una frecuencia máxima de un alelo al otro alelo con las condiciones ambientales en las cuales se distribuyen las poblaciones (Kirby, 2000). En *F. heteroclitus*, diferencias en capacidad adaptativa entre individuos portando diferentes alelos MDH han sido también asociadas con la temperatura del medio ambiente (Powers & Place, 1978).

2.2. Impacto de la acuicultura sobre la diversidad genética

Existen dos formas principales de impactar a las poblaciones naturales de cualquier área o sitio debido a las actividades acuícolas (Ibarra, 2006): 1) por el trasplante de semillas fértiles (juveniles 1-3 mm) a sistemas costeros con poblaciones naturales que presenten una estructura genética diferente a la de la semilla introducida, y 2) por la siembra de semilla fértil que se deriva de desoves inducidos 'en masa' en laboratorios utilizando un número efectivo de reproductores reducido.

Para la especie objeto de estudio de este trabajo se ha determinado recientemente que las poblaciones del Golfo de California presentan una estructura genética diferente a la de la población de Ojo de Liebre (Petersen et al., 2008a), y que los desoves inducidos 'en masa' en laboratorios resultan en una extremadamente baja variabilidad genética en la semilla producida (Petersen et al., 2008c), lo cual a su vez resulta en una reducida diversidad genética presente en los organismos en cultivo (Petersen et al., 2008b). La consecuencia de utilizar semillas producidas en laboratorio es que al crecer y madurar estas en el medio silvestre, contribuirán con gametos en la formación de la siguiente generación de la población silvestre. Una ventaja del animal triploide es que, como es estéril no se reproduce, disminuyendo por lo tanto el impacto genético sobre poblaciones silvestres presentes en las áreas de cultivo.

La reducción en diversidad genética a consecuencia de la producción en laboratorios de organismos no es exclusiva para la almeja mano de león, ya que ésta ha sido demostrada para diversas especies cuyo cultivo se realiza en forma comercial, como el pectínido *Argopecten irradians* (Blake et al., 1997), diferentes especies de abulón (Smith & Conroy, 1992; Evans et al., 2004; Li et al., 2004), ostión (Gaffney et al., 1992) y trucha (Was & Wenne, 2002), así como la almeja mano de león (Petersen et al., 2008b; 2008c). Uno de los primeros casos estudiados es el del salmón donde se ha demostrado que los salmones de cultivo presentan característicamente una menor diversidad genética que la existente en las poblaciones silvestres de donde se han derivado (Norris et al., 1999; Ward et al., 2003).

En el caso particular de la almeja mano de león, adicionalmente a la deriva génica resultado de la práctica de desoves en masa, Ibarra (2006) sugiere que esta especie presenta dos características biológicas que la hacen un peligro por impacto si se introduce o trasplanta a sitios con poblaciones naturales distintas a su origen. Una de estas características es su alta fecundidad, ya que se ha estimado que en desoves bajo condiciones de laboratorio se obtiene un promedio de 20.5×10^6 huevos por individuo (Maldonado-Amparo et al., 2004), por lo que se requiere de pocos reproductores para la producción de semilla, lo cual puede llevar rápidamente a un elevado coeficiente de endogamia por la alta consanguinidad de la semilla. Tal semilla, al alcanzar la madurez y desovar en sitios con poblaciones silvestres formará progenies cruzadas, alterando la estructura genética (y posiblemente la capacidad adaptativa) de ésta por introgresión genética. La otra característica es el hecho de ser una especie hermafrodita funcional para la cual la autofecundación es posible, lo que podría ocasionar que la semilla producida en laboratorios tenga un mayor coeficiente de endogamia que otros moluscos de sexos separados, como el ostión o el abulón.

La introgresión genética de las poblaciones domesticadas sobre las poblaciones silvestres ya ha sido demostrada en el caso de plantas, en donde esta introgresión es asimétrica. Esto es, ocurre un flujo de intercambio génico mucho mayor de las poblaciones domesticadas hacia las poblaciones silvestres que en dirección inversa. Debido a la baja variabilidad genética presente en las poblaciones domesticadas comparadas con las poblaciones silvestres, esto puede ocasionar una reducción de la variabilidad genética de las poblaciones silvestres, debido a un reemplazo de alelos silvestres por los alelos de la población domesticada (Papa, 2005). En los moluscos, el impacto genético de las semillas producidas en laboratorio sobre las poblaciones naturales ha sido documentado recientemente a través de la utilización de marcadores moleculares tipo microsatélite. Por ejemplo, en la ostra perlera *Pinctada maxima* se ha demostrado claramente una reducción de la variabilidad genética de las poblaciones en cultivo cuando se utilizan semillas producidas en laboratorio, comparadas con las poblaciones de donde son obtenidos los reproductores silvestres (Lind et al., 2009). En la almeja mano de león, *N.*

subnodosus se ha encontrado que la diversidad genética (alélica) de organismos en cultivo en la laguna de Guerrero Negro, producidos en laboratorio, es sustancialmente menor que la de las semillas obtenidas en forma natural (hasta 70% menor) que la de la población silvestre de la laguna Ojo de Liebre (Petersen et al., 2008b). En el caso de peces, el impacto genético sobre las poblaciones silvestres ha sido demostrado también recientemente. Por ejemplo, González et al. (2008) trabajaron con *Acanthopagrus schlegelii* en la Bahía de Hiroshima, un pez que ha sido cultivado intensamente en esa Bahía desde 1982, y para el cual se han reportado escapes de un gran número de juveniles de los sistemas de cultivo hacia las poblaciones silvestres. Los autores encontraron que entre un 12.5% y 13.5% de los organismos muestreados en la bahía eran de origen de cultivo, y también confirmaron una pérdida de variabilidad genética en la población silvestre, explicando esto como una consecuencia de la contribución gamética de los organismos de cultivo escapados a la población silvestre. Otro caso es el del salmón *Oncorhynchus kisutch*, para el cual se evaluó el efecto de la transferencia de organismos para el repoblamiento en varios ríos realizado durante varios años en el estado de Washington en EUA (Eldridge & Naish, 2007), encontrándose que la estructura genética de las poblaciones silvestres ha sido alterada a consecuencia del número de peces transferidos entre los ríos, y lo más importante, por el repoblamiento con peces de los mismos ríos producidos en laboratorio, los cuales, como ya se mencionó antes, presentan una reducción en la variabilidad genética respecto a las poblaciones silvestres (Norris et al., 1999; Ward et al., 2003; Eldridge & Naish, 2007).

No solamente la disminución en la variabilidad genética de poblaciones silvestres al cohabitar el mismo sitio es importante de considerar, ya que otra forma de impactar genéticamente a las poblaciones naturales es mediante la introducción de organismos de poblaciones de la misma especie pero con capacidades adaptativas diferentes. Las poblaciones silvestres presentan una diferenciación genética debido a un aislamiento espacial y un proceso evolutivo-selectivo, y al cruzarse con poblaciones con capacidad adaptativa diferente puede llevar a éstas a una pérdida en la capacidad de respuesta a las variaciones de las condiciones ambientales (Ward, 2006). Lo anterior ya ha sido reportado para algunos salmónidos, en donde

se ha observado que la descendencia de cruas entre poblaciones aisladas espacialmente del salm3n rosado *Oncorhynchus gorbuscha* presentan una reducci3n en la supervivencia desde la primera generaci3n, acentu3ndose esta reducci3n en la supervivencia en la segunda generaci3n (Gilk et al., 2004). Otro caso similar es el de la lobina de boca grande, en donde se ha observado una reducci3n mayor al 50% en la capacidad reproductiva de las siguientes generaciones, cuando se cruzan dos poblaciones gen3ticamente distintas (Philipp et al., 2002).

Aunado al impacto gen3tico, el hecho de trasladar o introducir organismos a sistemas de cultivo en cuerpos de agua con caracter3sticas ambientales a las cuales no est3n adaptados, tambi3n conlleva a obtener un bajo rendimiento en la producci3n acu3cola. Esto ha sido indirectamente demostrado para la almeja mano de le3n en las costas de la Pen3nsula de Baja California, ya que cuando se utilizaron semillas de reproductores provenientes de la laguna Ojo de Liebre (sitio ubicado en las costas del Pac3fico) se obtuvieron crecimientos de la concha de entre 0.21 y 0.26 mm d3a⁻¹, cuando fueron crecidas en sitios ubicados en la costa del Pac3fico (Garc3a-Dom3nguez et al., 1992; Morales-Hern3ndez & C3ceres-Mart3nez, 1996; Racotta et al., 2003). Sin embargo, al utilizar semillas de este mismo origen, pero crecidas en sistemas de cultivo en la Bah3a de la Paz (localidad ubicada en el Golfo de California), se report3 un crecimiento de 0.14 mm d3a⁻¹ (Barrios-Ruiz et al., 2003) y una supervivencia de 44.3%. Barrios-Ruiz et al. (2003) concluyen que el bajo crecimiento y supervivencia observadas en la Bah3a de La Paz comparado con el reportado en las costas del Pac3fico, se explica como una consecuencia del origen gen3tico de estas semillas, las cuales posiblemente no est3n adaptadas a las condiciones de temperatura presentes durante el verano en la Bah3a de La Paz. M3s recientemente, la Sociedad Cooperativa Mujeres del Golfo, sembr3 semillas de almeja mano de le3n provenientes de reproductores de la laguna Ojo de Liebre, en el Parque Nacional Bah3a de Loreto, Golfo de California. Esta sociedad report3 que en un periodo de cultivo de 30 meses (aproximadamente 915 d3as), la supervivencia fue de 40% (datos no publicados), y el peso del m3sculo aductor alcanz3 tan solo 8.4 g. Estos resultados son altamente contrastantes, considerando los crecimientos reportados por Osuna-Garc3a (2006) para esta misma especie crecida en la laguna

de Guerrero Negro, donde se obtuvieron pesos promedio de músculo de 40.7 g y una supervivencia de 90% en un periodo de cultivo de 22 meses.

2.3. Moluscos triploides en la acuicultura

La triploidía ha sido utilizada desde los años 80's como una biotecnología para incrementar la producción de moluscos bivalvos en poco tiempo, ya que generalmente los triploides presentan un mejor crecimiento que los diploides en un mismo tiempo de cultivo (Allen & Downing, 1986; Allen & Downing, 1991; Beaumont & Fairbrother, 1991). Los organismos triploides se pueden definir como aquellos organismos que han sido inducidos a portar tres juegos de cromosomas homólogos en lugar de los dos presentes en cualquier organismo diploide, ya sea por cruzamiento entre diploides y tetraploides, o por inducción química al momento de la fertilización, extrusión de cuerpos polares y formación del cigoto (Beaumont & Fairbrother, 1991).

El método comúnmente empleado para la producción de organismos triploides es mediante la retención del segundo cuerpo polar durante la fertilización y liberación de los cuerpos polares, que tiene como consecuencia una inhibición de la reducción cromosómica, lo cual da como resultado cigotos con tres juegos de cromosomas, dos maternos y uno paterno (Beaumont & Fairbrother, 1991). El método más empleado para lograr la retención del segundo cuerpo polar es mediante el uso del compuesto químico llamado citocalacina-B (CB). La CB, un antibiótico derivado de hongos, actúa inhibiendo la polimerización de la actina que produce el anillo contráctil para la formación de los cuerpos polares, inhibiendo así la reducción cromosómica (Longo, 1972) (Fig. 2).

2.3.1. Causas adscritas a la ventaja productiva de los moluscos triploides en cultivo

La causa del mejor crecimiento en los moluscos triploides, se ha adscrito principalmente a que en estos organismos, cuando alcanzan la edad reproductiva, durante la gametogénesis inicial o formación de gametos, ocurre una sinapsis

anormal durante la profase de la meiosis I (Thorgaard, 1983; Allen, 1987) al presentar tres juegos de cromosomas homólogos, lo cual da como resultado el arresto de la meiosis en la profase I, impidiendo la formación de ovocitos maduros (Maldonado-Amparo e Ibarra, 2002), y en consecuencia resulta en organismos parcial (Guo & Allen, 1994; Utting et al., 1996; Ruiz Verdugo et al., 2000; 2001), o totalmente estériles (Allen et al., 1986; Komaru & Wada, 1989; Kiyomoto et al., 1996). La esterilidad inducida por la condición triploide ha sido asociada directamente con un reducido esfuerzo reproductivo y el consecuente mantenimiento de las reservas energéticas de carbohidratos utilizados durante la maduración, resultando ello en un mejor crecimiento (Allen & Downing, 1986). Sin embargo, la esterilidad *per se* no siempre resulta en un mejor crecimiento, como fue demostrado en el caso particular de la almeja mano de león triploide (Maldonado-Amparo et al., 2004), para la cual a pesar de una esterilidad prácticamente total, no se encontró una ventaja en crecimiento sobre los diploides.

Lo observado en la almeja mano de león es la excepción en moluscos, ya que independientemente del grado de esterilidad presente en los moluscos triploides, esta condición resulta generalmente en un mejor crecimiento y/o calidad de la carne (Tabarini, 1984; Allen & Downing, 1986; Komaru & Wada, 1989; Allen & Downing, 1990; Beaumont & Fairbrother, 1991), o mayor tamaño en músculo aductor (Ruiz-Verdugo et al., 2000). En la tabla 1 se muestran ejemplos de la ventaja en crecimiento demostrada para diferentes especies de moluscos triploides.

2.3.2. Efectos del medio ambiente sobre el rendimiento productivo de triploides

En lo que respecta a la ventaja productiva de los organismos triploides respecto a los diploides, diferentes estudios han sugerido que esta ventaja podría estar también influenciada por el ambiente donde son cultivados estos organismos. Por ejemplo, en un estudio donde se evaluó la ventaja en producción de biomasa del ostión japonés *Crassostrea gigas* en diferentes sitios de cultivo en el Noroeste de México, se encontró que los ostiones triploides no presentaron una ventaja significativa respecto a los diploides, sólo en el Estero de Rancho Bueno en BCS.

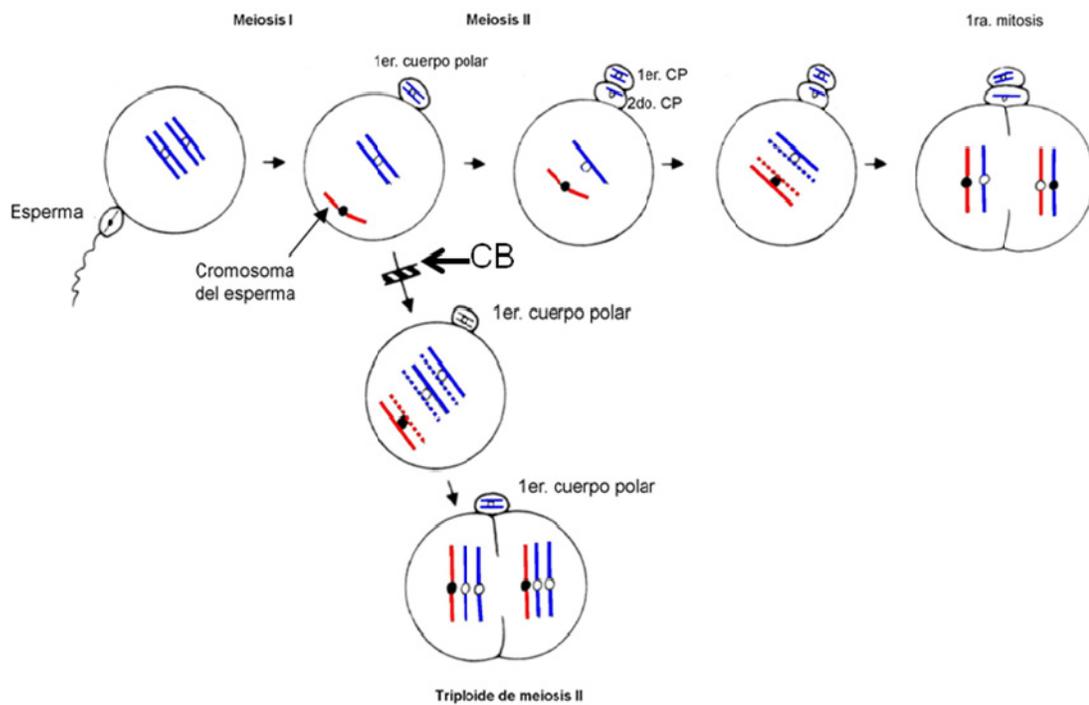


Figura 2. Esquema de producción de embriones triploides mediante el uso de citocalacina-B (CB), inhibiendo la extrusión del segundo cuerpo polar (Tomado de Ibarra-Humphries A. M. & Hernández-Ibarra N.K., no publicada).

Tabla 1. Ventajas en crecimiento obtenidas en organismos triploides en comparación con diploides de diferentes grupos de moluscos de importancia comercial (Modificada de Maldonado-Amparo, 2003).

ESPECIE	% INCREMENTO EN 3N	REFERENCIA
Ostréidos		
<i>Crassostrea gigas</i>	81% en biomasa húmeda 70% en biomasa húmeda 11-40% en biomasa húmeda	Akashige & Fushimi, 1991. Landau & Guo, 1991. Ascencio-Michel, 2008.
<i>Crassostrea virginica</i>	29% en biomasa húmeda 60% en biomasa húmeda	Barber & Mann, 1991. Matthiessen & Davis, 1992.
<i>Ostrea edulis</i>	61% en biomasa seca	Hawkins et al., 1994.
<i>Saccostrea commercialis</i>	31% en biomasa húmeda 41% en biomasa húmeda	Hand et al., 1998. Nell et al., 1994.
Pectínidos		
<i>Argopecten irradians</i>	36% en biomasa húmeda 73% músculo aductor	Tabarini, 1984.
<i>Argopecten ventricosus</i>	182% en músculo aductor.	Ruiz-Verdugo et al., 2000.
<i>Chlamys nobilis</i>	32-59% en biomasa húmeda. 52% en biomasa seca	Komaru & Wada, 1989.
<i>Chlamys farreri</i>	81% en biomasa húmeda 44-96% en músculo aductor.	Yang et al., 2000.
Ptéridos		
<i>Pinctada martensii</i>	27-58% en biomasa húmeda	Jiang et al., 1991.
Mactrídos		
<i>Mulinia lateralis</i>	72% en biomasa húmeda	Guo & Allen, 1994
Haliótidos		
<i>Haliotis laevigata</i>	30% en biomasa húmeda	Dunstan et al., 2007

Este estero se caracteriza por una alta productividad primaria y por menores temperaturas que las presentes en los otros dos sitios ubicados en las costas de Sonora y Sinaloa, Golfo de California. En estos dos últimos sitios, donde el rendimiento obtenido en triploides de ostión superó significativamente al de los

diploides, la productividad primaria promedio es menor, y ambos sitios se caracterizan por presentar altas temperaturas durante los meses de verano (Ascencio-Michel, 2008). Resultados similares han sido reportados para esta misma especie, cuando fue evaluada en condiciones de laboratorio con temperaturas bajas y altas, encontrándose que los triploides presentaron una mayor tasa de crecimiento y mayor índice de condición que los diploides a altas temperaturas (Shpigel et al., 1992). Esta ventaja sobre los diploides fue atribuida a que los triploides tienen una ventaja energética a altas temperaturas, debido a que en los diploides existe un agotamiento en las reservas de carbohidratos relacionados con la madurez gonádica. A bajas temperaturas los diploides presentaron un mayor índice de condición que los triploides, probablemente asociado con el crecimiento y madurez de la gónada en los diploides (Shpigel et al., 1992). Así mismo, Maldonado-Amparo et al. (2004) en un estudio realizado en Bahía Magdalena con la almeja mano de león, mostró que no hubo diferencias significativas en crecimiento entre triploides y diploides a pesar de haber observado una esterilidad prácticamente total en triploides. Los autores explican esta igualdad en crecimiento entre triploides y diploides con dos hipótesis; (1) los triploides de almeja mano de león presentan una mayor tasa de filtración que los diploides como fue encontrado para el ostión *S. commercialis* en Australia por Kesarcodi-Watson et al. (2001b), y en sitios con alta productividad como lo es el Estero de Rancho Bueno, resulta en una desventaja sobre los triploides, posiblemente asociado con un mayor gasto energético (debido a un aumento en la tasa de respiración y excreción en comparación con los diploides) en sitios con alta disponibilidad de alimento y (2) como una consecuencia de la estrategia reproductiva de tipo oportunista cuando se le cultiva en ese sitio particular, como fue sugerido por Racotta et al. (2003).

Para el planteamiento de las hipótesis anteriores, Maldonado-Amparo et al. (2004) se basaron en el hecho de que existe una alta disponibilidad de alimento en el área de Bahía Magdalena donde se encuentra el Estero de Rancho Bueno, siendo esto posiblemente la causa de no observar diferencias entre diploides y triploides, debido a que el costo total de la energía para la gametogénesis y vitelogénesis en los diploides puede ser obtenido directamente del alimento disponible en el medio, sin o

con una mínima transferencia de energía de los tejidos de almacenamiento hacia la gónada como fue previamente observado para diploides de esta especie en este sitio (Racotta et al., 2003). Posteriormente Racotta et al. (2008) confirmaron que a pesar de observarse un incremento en la acumulación de reservas energéticas en el músculo de los mismos organismos experimentales diploides y triploides evaluados por Maldonado-Amparo et al. (2004), no se observaron diferencias entre diploides y triploides en la utilización de esas reservas durante la gametogénesis y vitelogénesis en diploides. Esto contrasta con lo encontrado por Arellano-Martínez et al. (2004a & 2004b) para una población silvestre de esta misma especie, en la laguna Ojo de Liebre, donde se encontró que la estrategia reproductiva no fue de tipo oportunista como la observada en Bahía Magdalena, habiéndose observado en Ojo de Liebre un ciclo de almacenamiento de energía y su transferencia hacia la gónada para soportar la gametogénesis (estrategia conservativa). Estas diferencias en estrategia reproductiva entre sitios de cultivo pueden ser explicadas por la disponibilidad de alimento en cada uno de ellos, la cual es significativamente mayor en Bahía Magdalena. Esto es, a pesar de que tanto la laguna Ojo de Liebre como Bahía Magdalena son conocidos como sitios de alta productividad biológica (BACs por sus siglas en inglés), en la laguna Ojo de Liebre la productividad primaria reportada es menor, 0.1 a 1.5 mg clorofila-*a* m⁻³ (Hernández-Rivas et al., 2000) que en Bahía Magdalena, en la cual, la concentración de clorofila-*a* varía de 0.36 mg clorofila-*a* m⁻³ en temporada de baja productividad primaria, hasta 4.5 mg clorofila-*a* m⁻³ en temporada de alta productividad primaria (Martínez López & Verdugo-Díaz, 2000).

Dadas estas diferencias en productividad entre los dos sitios, la primera hipótesis antes presentada puede ser replanteada de la siguiente forma: (1-bis) los triploides de esta especie presentan mayor tasa de filtración que los diploides, lo que en sitios de alta productividad les confiere una desventaja asociada a un gasto energético elevado (por respiración y excreción), mientras que en sitios de baja productividad esta alta tasa filtración puede conferirles una ventaja sobre los diploides en la adquisición de energía y crecimiento.

Aunque no existen estudios específicos que establezcan diferencias en adquisición de alimento y gasto energético asociado a la disponibilidad de alimento entre diploides y triploides de la almeja mano de león, una respuesta indirecta a tal hipótesis puede ser obtenida a través de la evaluación del crecimiento de diploides y triploides en un sitio de cultivo con baja productividad y alta demanda energética asociada con elevadas temperaturas. Tal sitio es la Bahía de Loreto en el Golfo de California, donde la productividad primaria varía de 0.38 a 1.63 mg clorofila-*a* m⁻³ (Reyes-Salinas, 1994), la cual no difiere de la productividad encontrada en Ojo de Liebre.

Sin embargo, no solamente la disponibilidad de alimento es importante en el crecimiento de los organismos, ya sea diploides o triploides, sino también lo es la temperatura a la cual se cultivan los organismos. Otra diferencia importante entre los sitios antes evaluados en las costas del Pacífico y este nuevo sitio en el Golfo de California es la temperatura promedio alcanzada en ellos. Las costas del Pacífico presentan la influencia de corrientes del norte, que mantiene las temperaturas promedio en un rango de 15.2°C a 25.4°C (Hernández-Trujillo, 2000), mientras que las del Golfo de California presentan rangos desde 19°C y hasta 31°C (Martínez-López et al., 2000).

Como se mencionó antes, el efecto de incrementos de la temperatura sobre el crecimiento en moluscos generalmente ha sido reportado como positivo (Gilfillan et al., 1976; Bayne & Widdows, 1978; Vahl, 1980; MacDonald & Thompson, 1986), aunque pocos estudios han evaluado el crecimiento a temperaturas similares a las encontradas en zonas tropicales. Entre los pocos estudios existentes están los de Shpigel et al. (1992) y Flores-Vergara et al. (2004), quienes evaluaron el efecto de altas temperaturas sobre el crecimiento, supervivencia y metabolismo fisiológico de semilla y juveniles del ostión *Crassostrea gigas*, ambos encontrando un efecto deletéreo en todas las variables anteriores.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que organismos triploides de almeja mano de león han sido evaluados únicamente en un medio de cultivo rico en alimento y donde las temperaturas no se consideran como un factor estresante, es importante definir si al cultivarla en un medio ambiente con menor disponibilidad de alimento y mayores temperaturas los triploides de esta especie presentan una ventaja productiva sobre los diploides.

En este estudio se pretende entender si el sitio de cultivo y las condiciones ambientales imperantes en el mismo, como son la temperatura y la productividad primaria medida como concentración de clorofila-a m^{-3} tienen una influencia directa sobre el crecimiento diferencial de la almeja mano de león diploides y triploides producidas con organismos nativos al sitio de cultivo, y si esto ocurre en asociación o no con el desarrollo de la gametogénesis y vitelogénesis en diploides, bajo el supuesto de que los triploides presentarán esterilidad total, como ha sido antes observado para esta condición de ploidía en esta especie.

En forma particular, este conocimiento es importante para aquellas áreas que están destinadas a la conservación, como son las reservas y parques naturales como es el Parque Nacional Bahía de Loreto, donde se realizó el presente estudio en la Cooperativa Mujeres del Golfo, en el y a su vez es importante establecer si el uso de organismos triploides aumenta el rendimiento productivo en cultivo de esta especie, logrando en forma paralela beneficios económicos y sociales, sin impactar a las poblaciones silvestres de esta especie.

4. HIPÓTESIS

(1) La almeja mano de león triploide cultivada en Bahía de Loreto presenta mayor crecimiento que el de los diploides, lo que se debe principalmente al alto grado de esterilidad (>95%) de los triploides.

(2) La productividad primaria (clorofila-a) y la temperatura encontradas en Bahía de Loreto se asocian directamente con una diferencia en crecimiento entre los diploides y los triploides, cuando los primeros se encuentran en actividad gameto-vitelogénica.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Definir si el uso de organismos triploides de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* permite realizar cultivos de alto rendimiento y bajo impacto genético por alta esterilidad en el Parque Nacional Bahía de Loreto.

5.2. Objetivos específicos:

1. Evaluar el crecimiento y la supervivencia de los organismos triploides y diploides de la almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* durante un periodo de cultivo de 16 meses con el fin de establecer si existe una mejora productiva en rendimiento acuícola al utilizar triploides.

2. Evaluar el grado de esterilidad de los organismos triploides de *N. subnodosus* con el fin de establecer si existe una asociación de éste con el crecimiento observado entre diploides y triploides.
3. Establecer si existe una asociación de la temperatura y de la cantidad de alimento disponible (clorofila-*a*) con el crecimiento y desarrollo gonadal observados en diploides y triploides de *N. subnodosus* en Bahía de Loreto durante 16 meses de cultivo.

6. METODOLOGÍA

6.1. Descripción del área de estudio

El presente trabajo se realizó en Puerto Escondido, el cual está ubicado dentro del Parque Nacional Bahía de Loreto. Este parque se ubica frente a las costas del Municipio de Loreto, B.C.S entre las coordenadas 25° 35' 18.41" y 26° 07' 48.72" latitud norte y 110° 45' 00" y 111° 21' 08.67" de longitud oeste, en la parte centro-este del estado de Baja California sur, en la zona conocida como Bahía de Loreto (Fig. 3).

De acuerdo a CONAP-SEMARNAP (2000), dentro de esta área se localizan las islas Coronados, del Carmen, Danzante, Montserrat y Santa Catalina (o Catalana), además de varios islotes. La superficie total del parque es de 206,580.75 hectáreas. De esta, las islas ocupan alrededor del 20% y el resto del área, el 88%, es en su totalidad marina.

La diversidad de hábitats y biológica de la zona es alta, ya que aquí confluyen poblaciones de especies marinas representantes de las provincias biogeográficas Panámica (tropical) y Californiana (templada). Tal diversidad biológica es por lo que esta zona, denominada Bahía de Loreto, se decretó Área Natural Protegida con la categoría de Parque Nacional Marino el 19 de julio de 1996. El objetivo de decretar esta zona como Área Natural Protegida, es el de establecer las estrategias y mecanismos de manejo que permitan preservar los recursos naturales renovables y no renovables presentes en el sitio, promoviendo el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales del parque, compatibles con su conservación, y promoviendo el desarrollo social de las comunidades asentadas en la zona.

En este parque, además de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), se encuentran varias especies de moluscos de importancia comercial susceptibles a explotación comercial. Dentro de este grupo se encuentran: el hacha larga (*Pinna*

rugosa); las hachas china (*Atrina tuberculosa* y *Atrina maura*); la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*); los ostiones de piedra (*Hyotissa hyotis* y *Crassostrea iridescens*); las almejas pata de mula (*Anadara tuberculosa* y *A. multicosata*); la almeja india (*Glycymeris gigantea*); la almeja roñosa (*Chione spp.*); las almejas blancas (*Dosinia dunkeri* y *D. ponderosa*); la almeja chocolate roja (*Megapitaria aurantiaca*); la almeja chocolate (*Megapitaria squalida*); la almeja espinosa (*Saundylus princeps*); la almeja voladora (*Pecten vogdesi*); el caracol chino negro (*Muricanths nigritus*); el caracol chino rosa (*Hexaplex brassica*); los caracoles burros (*Strombus galeatus* y *S. gracilior*), los pulpos (*Octopus bimaculatus* y *O. hubsorum*). Adicionalmente, en este parque nacional se encuentran también seis de siete invertebrados en la lista de Protección Especial para el Pacífico (NOM-059-ECOL-1994): la almeja burra (*Spondylus calcifer*); la madre perla (*Pinctada mazatlanica*); la concha nácar (*Pteria sterna*); el pepino de mar gigante (*Isostichopus fuscus*); el caracol de tinta (*Plicopurpura pansa*) y el caracol gorrito (*Crucibullum scutellatum*).

La temperatura del agua en la superficie presenta variaciones altas en verano, que oscilan entre los 26°C y 33°C, mientras que en invierno se registran temperaturas hasta de 17.5°C. En esta bahía la marea es mixta, predominantemente diurna. La transparencia del agua es total en las zonas someras, y en zonas más profundas la visibilidad del disco de Secchi es de hasta 25 m. La salinidad superficial presenta pequeñas fluctuaciones a lo largo del año: entre los meses de abril-mayo y julio-agosto están entre los 34.9 ups y 35.2 ups. Las concentraciones de oxígeno oscilan entre 7.4 y 8.5 mg L⁻¹ (CONAP-SEMARNAP, 2000).

6.2. Grupos experimentales – conformación y cultivo

6.2.1. Origen de reproductores y acondicionamiento para el desove

Durante septiembre de 2007 se colectaron por buceo (25 m) en la zona de Bahía de Loreto (frente a Ensenada Blanca en Ligüi) 25 reproductores silvestres (longitud media de concha, 140 mm), los cuales fueron transportados al Laboratorio de Genética y Mejoramiento Animal Acuícola del CIBNOR, y utilizados en la producción

de los grupos experimentales. Estos organismos fueron seleccionados por presentar una madurez entre parcialmente madura y madura, tomando como base la escala visual de madurez propuesta por Sastry (1963).

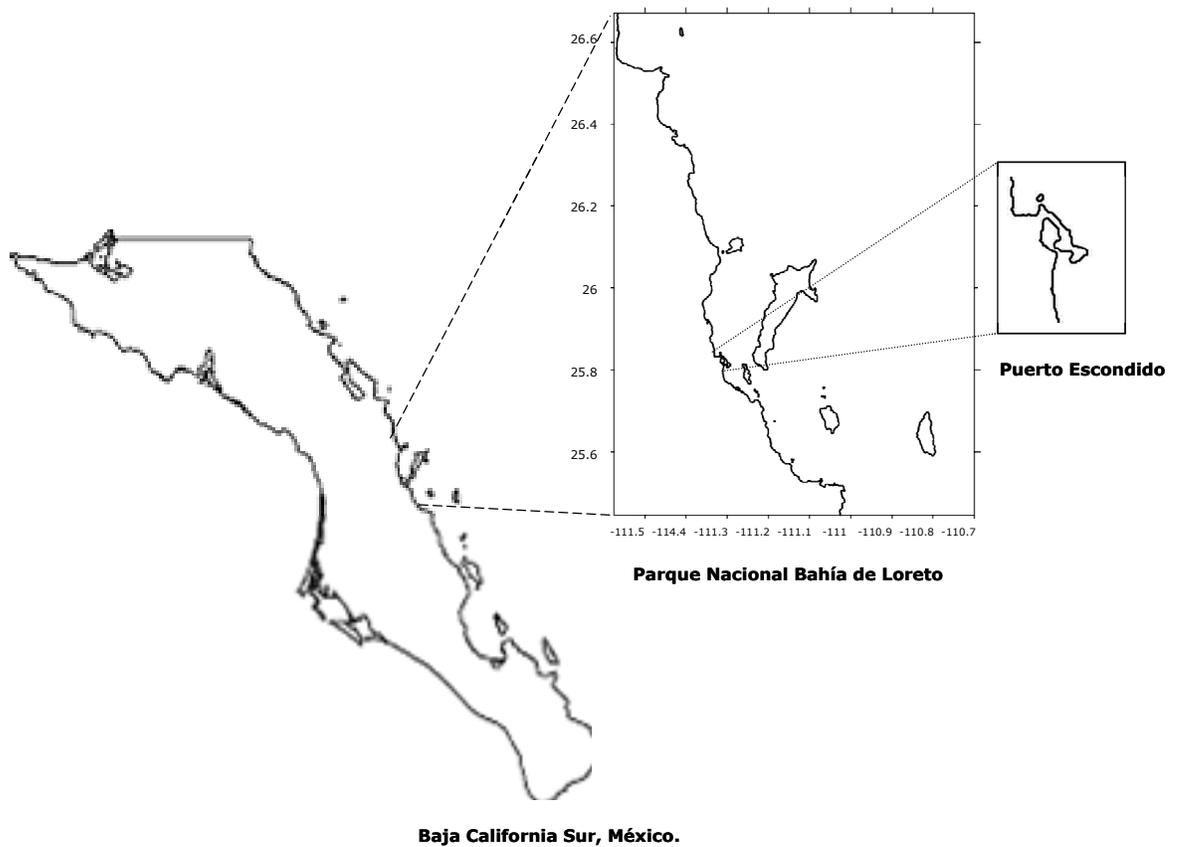


Figura 3. Localización del área de estudio: Puerto Escondido, en el Parque Nacional Bahía de Loreto del estado de Baja California Sur, México.

Una vez en el laboratorio, fueron acondicionados para el desove durante 15 días siguiendo la metodología de Ramírez et al. (1999), la cual consiste en proveer alimentación continua mediante un sistema automático de goteo. La alimentación consistió en una mezcla de dos microalgas, *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans*, en una proporción de 1:1. La cantidad de alimento utilizado fue de 1.5×10^9 células organismo⁻¹ día⁻¹. La temperatura del agua fue mantenida a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ durante el tiempo de acondicionamiento.

6.2.2. Inducción al desove y a la triploidía

La inducción al desove se realizó de manera individual mediante una inyección de serotonina (0.5 μl a [0.5 mM] en el músculo aductor. En esta especie hermafrodita funcional, la serotonina induce la liberación del esperma primero, seguido por los ovocitos. Una vez que son obtenidos los ovocitos, son lavados inmediatamente, utilizando un tamiz de 15 μm , con la finalidad de eliminar el esperma presente para evitar en lo posible la autofecundación.

Se obtuvieron los ovocitos de cinco organismos diferentes, los cuales fueron colocados individualmente en vasos de precipitados (1L), fertilizándolos con un “pool” de esperma obtenido de otros tres organismos que fueron utilizados únicamente como machos. La mitad del volumen de ovocitos fue utilizada para conformar los grupos triploides y el otro 50% para conformar el grupo control diploide. Con el fin de optimizar el éxito alcanzado en el porcentaje de triploidía la inducción a la triploidía se realizó individualmente por desove (Ruiz-Verdugo et al., 2001), donde el tiempo de inicio y final del tratamiento fue acorde a la extrusión de los cuerpos polares en cada desove.

Para la inducción a la triploidía de almeja mano de león se siguió el protocolo ya establecido en el laboratorio de Genética y Mejoramiento Animal Acuícola del CIBNOR (Ruiz-Verdugo et al., 2000 y 2001; Maldonado-Amparo et al., 2004; Ibarra-Humphries & Ramírez-Arce, 2008). Este método consiste en la inhibición de la extrusión del segundo cuerpo polar posterior a la fertilización, aplicando el inductor a

la triploidía, la citocalacina-B (SIGMA C6762) a una concentración de 0.75 mg L^{-1} , cuando se observa un 50% del primer cuerpo polar en los huevos fecundados del grupo control correspondiente, y lavando el inductor cuando se observa un 50% del segundo cuerpo polar (Fig. 4). El tiempo de inicio del tratamiento fue de aproximadamente 15 min después de la fertilización, con una duración del tratamiento de aproximadamente otros 15 min. La temperatura del agua fue de 24°C .

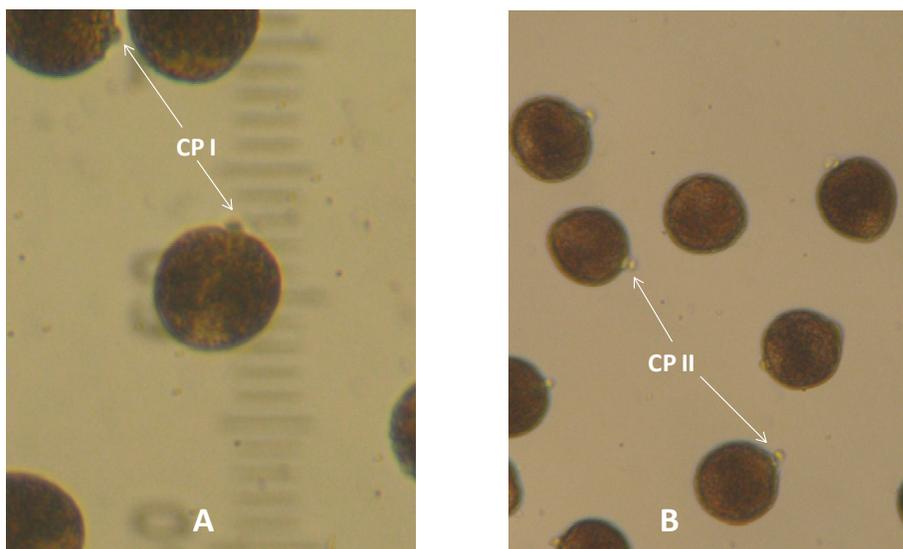


Figura 4. Microfotografías mostrando huevos de almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* recién fecundados, en los cuales se observan: (A) el primer cuerpo polar (CPI) y, (B) el segundo cuerpo polar (CPII), siendo expulsados como resultado de la conclusión de la meiosis I y II, respectivamente.

Posteriormente a la inducción a la triploidía, los embriones controles y tratados de cada desove fueron mantenidos en forma individual durante 24 horas, hasta que estos alcanzaron el primer estadio de larva veliger (larva D). El porcentaje de triploidía obtenido de cada desove en larva-D fue evaluado por citometría de flujo utilizando un analizador de ploidía (PARTEC PA-III, Alemania) y siguiendo la metodología establecida por Allen (1983). De los cinco desoves inducidos, dos

resultaron en larvas anormales y fueron descartadas. Los otros tres desoves inducidos presentaron un 80% de triploidía. Una vez evaluado el porcentaje de triploidía por desove, las larvas-D de todos los grupos controles y las de todos los grupos tratados fueron mezcladas, por separado, conformando los dos grupos experimentales, diploides y triploides.

6.2.3. Cultivo larvario

Después de conformarse los dos grupos experimentales, se inició el cultivo larvario en forma separada de ambos grupos. El cultivo se llevó a cabo utilizando dos tanques de 500-L para cada grupo, con una densidad inicial de 5 larvas ml^{-1} . La alimentación se basó en el suministro de la microalga *Isochrysis galbana* a una concentración de 30,000 cel $\text{ml}^{-1} \text{ día}^{-1}$ durante los primeros tres días del cultivo. A partir del cuarto día se utilizó una alimentación a base de dos microalgas, *I. galbana* y *Chaetoceros calcitrans* (proporción 1:1) a una concentración de 40,000 cel $\text{ml}^{-1} \text{ día}^{-1}$ entre los días 4-8 de cultivo, aumentando la concentración a 50,000 cel $\text{ml}^{-1} \text{ día}^{-1}$ desde el octavo día de cultivo hasta 15 días después, cuando aproximadamente el 50% de las larvas alcanzó el estadio de pediveliger, o larva con mancha ocular. La temperatura fue mantenida a 24°C y se realizó un recambio total de agua cada 48 horas.

Al llegar las larvas a este estadio de pediveliger, que es cuando ocurre su fijación a un sustrato, las larvas en cada uno de los grupos experimentales fueron colocadas en tanques de fondo cónico de 80-L utilizando tres tanques por grupo experimental, y ajustando la densidad de cultivo a 1 individuo ml^{-1} . Se introdujo a los tanques un sustrato de malla plástica de color negro con una luz de malla de 3 mm para la fijación de las larvas. En esta etapa, la alimentación consistió en una mezcla de las microalgas *I. galbana* y *C. calcitrans* (proporción 1:1) iniciando con una concentración de 50,000 cel ml^{-1} , la cual se incrementó conforme se incrementó el consumo diario observado, terminando con una concentración de 180,000 cel ml^{-1} . Durante los primeros 7 días de fijación se realizaron recambios de agua cada 48 horas, posteriormente se realizó un recambio del 100% diario. El tiempo de cultivo de larva

fijadora hasta semilla de 2 mm de longitud fue de 45 días. La temperatura del agua se mantuvo en 24°C durante todo el periodo de cultivo.

6.2.4. Cultivo en campo

6.2.4.1. Preengorda de semilla

Al alcanzar la semilla la talla de 2 mm de longitud de concha, esta fue desgranada de los sistemas de fijación y colocada en bolsas de malla plástica con luz de malla de 1000 μm . Se obtuvieron 3,300 semillas del grupo triploide y 6,000 semillas del grupo control-diploide, las cuales fueron colocadas a una densidad de aproximadamente 1000 semillas por bolsa. En esta etapa se realizó un nuevo análisis de citometría del grupo triploide utilizando 30 semillas de forma individual, obteniendo un 30% de triploidía en el grupo.

Las semillas fueron transportadas en diciembre del 2007 a Puerto Escondido, Parque Nacional Bahía de Loreto. Cada bolsa fue colocada en una canasta ostrícola de plástico, formando módulos de cultivo, en un sistema en suspensión durante aproximadamente 60 días. Posteriormente la semilla se cambió a bolsas con luz de malla de 2 mm, manteniéndola así por otros 60 días, hasta que alcanzó la longitud de 1.5 cm, (talla en la cual puede ser liberada en canastas ostrícolas). La preengorda hasta la liberación de la semilla a canasta ostrícola ocurrió de mediados de diciembre del 2007 a inicios de abril del 2008.

6.2.4.1. Engorda

El mes de abril de 2008, cuando la semilla (1.5 cm) fue colocada libremente en las canastas ostrícolas (Fig. 5), fue definido como la edad 0-días del cultivo. A partir de este momento se llevó a cabo un manejo de densidades en canastas mediante conteo directo de cada organismo. Nuevamente se realizó un análisis de citometría para confirmar el porcentaje de triploides, encontrando que este no cambió del estimado en semilla, siendo de 30%. La densidad inicial por canasta para ambas ploidías fue de 400 organismos por canasta, quedando cuatro canastas con 400

organismos cada una para el grupo triploide y diez canastas con 400 organismos cada una para el grupo control diploide. Solamente para esta etapa cada canasta fue considerada como una réplica.



Figura 5. Fotografía mostrando juveniles de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) al concluir la etapa de pre-engorda en bolsas de malla dentro de las canastas ostrícolas, e iniciarse las evaluaciones de este trabajo.

6.3. Diseño experimental

A los 36 días de cultivo (mayo de 2008) se dio inicio a las evaluaciones de crecimiento durante la engorda. Se formaron tres módulos por grupo (tres para el grupo triploide y tres para el grupo control diploide), considerando cada módulo como una réplica (Fig. 6). Cada módulo se formó utilizando cinco canastas ostrícolas, colocando 230 organismos por canasta. Las medidas de las canastas ostrícolas usadas fueron de 55 cm de longitud, 55 cm de altura, y 7.5 cm de profundidad, con un área por canasta de 0.3 m²). El cultivo se realizó en suspensión durante los 476 días del estudio.

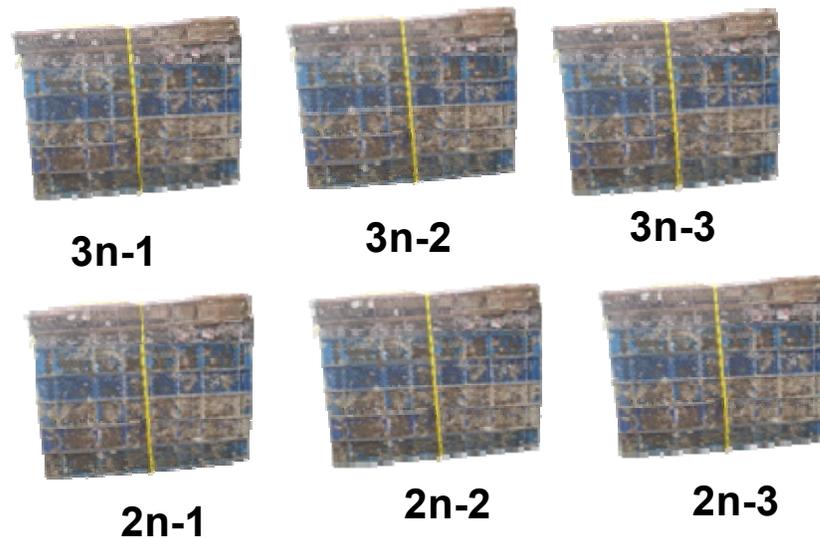


Figura 6. Módulos de cultivo que conformaron cada réplica durante las evaluaciones en campo, tanto para el grupo triploide (3n) como para el grupo control diploide (2n).

La toma de muestras para todas las evaluaciones, así como el ajuste de densidades, se realizaron por periodos de entre 45 y 60 días, iniciando en mayo del 2008 (36 días de cultivo) y finalizando en agosto del 2009 (476 días de cultivo) (Tabla 2).

6.3.1 Caracteres y variables evaluadas

6.3.1.1. Crecimiento

En cada fecha de muestreo, a partir de los 36 días de cultivo en campo, se tomaron al azar 30 organismos por réplica tanto del grupo triploide como del control diploide. La aleatoriedad del muestreo se logró colocando a todos los organismos de cada réplica (módulo) en un recipiente de plástico, homogeneizándolos y tomando 30 organismos al azar. Estos organismos se transportaron al Laboratorio de Genética y

Mejoramiento Animal Acuícola del CIBNOR, en donde fueron evaluados para determinar las siguientes variables de crecimiento: longitud (distancia antero-posterior: eje de oreja a oreja), altura de la concha (desde la línea de la charnela hasta el margen distal de la concha), convexidad de la concha (distancia máxima entre la valva derecha e izquierda) (Fig. 7), peso total vivo, peso de biomasa total o de tejidos, peso del músculo y peso de la gónada. El peso del músculo aductor fue obtenido a partir del día 137, tiempo en el cual fue posible separarlo del resto de los tejidos, mientras que el peso de la gónada fue obtenido a partir del día 282, momento en el que se comenzó a diferenciar.

Tabla 2. Fechas en las que se realizaron las evaluaciones de crecimiento, supervivencia, obtención de músculos aductores y gónadas para análisis histológicos, así como ajuste de densidades.

Mes de cultivo	Días de cultivo	Organismos por canasta	Densidad por metro cuadrado
Abril 2008	0	400	1333
Mayo 2008*	36*	230	766
Julio 2008	84	100	333
Septiembre 2008	137	90	300
Octubre 2008	186	60	200
Diciembre 2008	231	50	166
Febrero 2009	282	40	133
Abril 2009	351	30	100
Junio 2009	406	20	66
Agosto 2009	476	**	**

*Inicio de evaluaciones de crecimiento.

**Final de evaluaciones de crecimiento.

Cada uno de los individuos evaluados y muestreados del grupo de los triploides fue nuevamente verificado individualmente para confirmar su ploidía. La verificación se realizó posteriormente a la toma de datos biométricos y muestreo de tejidos, preservando un trozo de manto (0.25 cm²) a -80°C hasta llevar a cabo el análisis de ploidía por medio de citometría de flujo como se describe en Maldonado-Amparo et al. (2004).

Una vez establecida la ploidía individual de los organismos muestreados dentro del grupo triploide, los datos fueron reorganizados de manera tal que solo se utilizaron organismos con triploidía confirmada para los análisis subsecuentes.

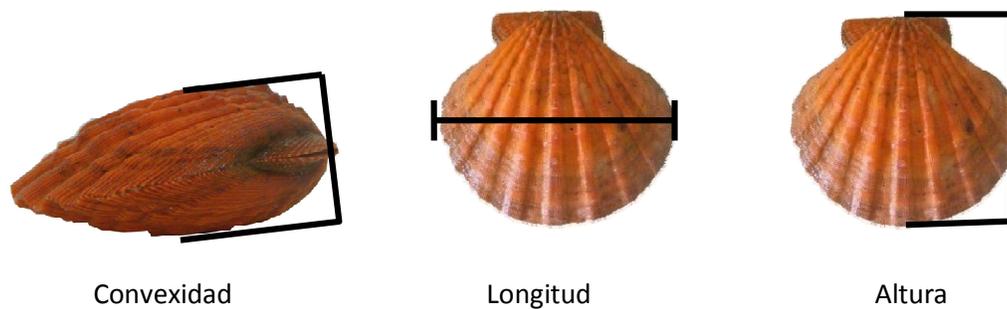


Figura 7. Distancias de la concha consideradas para la evaluación del crecimiento de talla.

6.3.1.2. Índices relativos (Músculo y Gónada)

El índice de músculo aductor (IM) fue calculado de acuerdo a Cáceres-Martínez et al. (1990):

$$\text{IM} = \frac{\text{Peso Músculo (g)}}{\text{Peso Biomasa (g) - Peso Músculo (g)}}$$

El índice de la gónada (IG) fue calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$IG = \frac{\text{Peso Gónada (g)}}{\text{Peso Biomasa (g) - Peso Gónada (g) - Peso Músculo (g)}}$$

A diferencia de otros autores, para la estimación de este índice se restó del peso de la biomasa no solamente el de la gónada, sino también el peso del músculo debido a que el peso del músculo entre diploides y triploides difiere sustancialmente, y un índice de gónada que no considera tal diferencia estaría sesgado por esas diferencias, no representando lo que un índice gonadal busca definir: desarrollo de gónada.

6.3.1.3. Tasa de crecimiento por día

Las tasas de crecimiento por un día para todos los caracteres evaluados por ploidía, fueron calculadas mediante análisis de regresión lineal considerando las medias de crecimiento de todas las evaluaciones durante el cultivo (días 36 al 476, y de los 137 al 476 día para músculo aductor). La ecuación utilizada fue:

$$Y_i = \alpha + \beta X_i$$

En donde:

Y_i = valor medio de la variable utilizada para evaluar la tasa de crecimiento (i.e. i = longitud)

α = intercepción

β = b = pendiente de la regresión, indicando el incremento promedio en crecimiento por día para cada caracter evaluado.

Adicionalmente, se evaluaron las diferencias entre las tasas de crecimiento para todos los caracteres morfométricos por medio de pruebas de t -pareadas entre

diploides y triploides, para establecer si existen diferencias entre ploidías en tales tasas.

6.3.1.4. Supervivencia

Para evaluar la supervivencia se utilizó el método de conteo directo de los organismos vivos por cada réplica. Se estimó como supervivencia la fracción resultante del número de organismos sembrados por réplica en cada evaluación y el número encontrado vivo en la siguiente evaluación.

6.4. Análisis estadísticos de crecimiento, índices y supervivencia

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, considerando como factores fijos la edad y ploidía, para evaluar tanto el efecto de la ploidía sobre los caracteres de crecimiento y supervivencia a lo largo del cultivo (edad) como de la interacción entre esos dos factores. Como análisis *post-hoc*, se utilizó el método de Tukey para establecer las diferencias entre medias. La significancia establecida para todos los análisis fue de $P < 0.05$.

Para las variables de supervivencia, índice de gónada, e índice de músculo los datos fueron transformados a arcoseno para su normalización (Zar, 1999) antes del análisis, obteniendo la raíz cuadrada del valor en proporción (p) y posteriormente el arcoseno de ese valor. Las medias obtenidas y analizadas para diferencias estadísticas fueron retransformadas posteriormente a porcentajes o fracciones para claridad en la presentación de los resultados.

6.5. Desarrollo gonádico y grado de esterilidad en triploides certificados

Para evaluar el desarrollo gonádico a lo largo del tiempo de cultivo y el grado de esterilidad al alcanzar los diploides su primera madurez sexual se obtuvieron las gónadas de todos los individuos, colocándolas en un casete para histología,

marcando cada casete con la clave correspondiente a cada individuo (grupo experimental – réplica – número de individuo) y fijándolas en solución Davidson hasta la verificación de la ploidía de cada individuo como se describió antes. Solo aquellos individuos del grupo triploide que fueron verificados como triploides por citometría de flujo fueron utilizados para los análisis histológicos subsecuentes. Un total de 15 individuos por réplica del grupo diploide fueron muestreados y utilizados para estos mismos análisis. Las gónadas de ambos grupos fueron procesadas mediante la técnica histológica convencional (Humason, 1979), que consiste en la deshidratación del tejido sumergiéndolo en una serie de alcoholes a concentraciones crecientes, y la inclusión del mismo en parafina. Se realizaron cortes de 5 µm, utilizando una tinción de hematoxilina, con eosina como contraste.

Los cortes histológicos fueron examinados microscópicamente. Se utilizó la escala de madurez gonádica propuesta por Arellano-Martínez et al. (2004a) para esta misma especie: indiferenciado, inicio de desarrollo, desarrollo avanzado, madurez, desove parcial, posdesove y reabsorción.

El grado de esterilidad en triploides fue estimado cuantificando el número de ovocitos vitelogénicos y posvitelogénicos presentes en 10 acinos por individuo (Maldonado-Amparo e Ibarra, 2002b) en 16 organismos de cada ploidía a los 406 días de edad en cultivo, que fue cuando los organismos diploides alcanzaron su primera madurez sexual. Para la cuantificación del tipo de ovocitos se utilizó el programa Image-Pro Plus 6.0.

6.6. Variables ambientales

Las variables ambientales registradas en el área de estudio dentro de la Bahía de Loreto durante el tiempo de cultivo y consideradas en este trabajo fueron la temperatura y la cantidad de alimento disponible medida con la concentración de clorofila-*a*. La temperatura fue medida *in situ* con un termógrafo, registrando la temperatura del agua cada media hora. La concentración de clorofila-*a* fue estimada

utilizando imágenes de satélite (promedios mensuales de SeaWiFS y MODIS-Aqua de 1 km de resolución, UCSD), estos datos fueron obtenidos por la Dra. Marlene Manzano Saravia (CIBNOR S.C.).

Se estimó la correlación entre estas dos variables y a través de una regresión lineal, se obtuvo una ecuación predictiva de la concentración de clorofila-a esperada a diferentes temperaturas.

7. RESULTADOS

7.1. Crecimiento absoluto

En todos los caracteres morfométricos evaluados durante el periodo de cultivo, el grupo triploide presentó un crecimiento significativamente mayor que el grupo diploide ($P < 0.05$). El mayor crecimiento de los triploides se observó tanto en el promedio de los meses de evaluación, como en la comparación de medias entre diploides y triploides al final del estudio (476 días de cultivo).

El análisis estadístico empleado para evaluar los caracteres de crecimiento, que considera la edad y ploidía, indica que hay un efecto significativo de ambos factores para todos los caracteres evaluados, pero no se observó una interacción significativa para los caracteres de crecimiento de concha en longitud, altura y convexidad. Adicionalmente a las diferencias entre la media de crecimiento durante el tiempo de cultivo, se encontraron diferencias significativas de medias entre ploidías al final del estudio solamente para la longitud y la altura, a una edad en cultivo de 476 días (Fig. 8).

Para los caracteres de peso total, peso de biomasa y peso de músculo, sí se observó una interacción entre días en cultivo y ploidías, la cual fue consecuencia de una mayor diferenciación entre ploidías para estos caracteres en los 406 y 476 días de cultivo, o al final del estudio. Para peso total, la interacción observada está en el límite de significancia ($P = 0.046$) a diferencia de la observada para el peso de biomasa y del músculo. En el caso del peso de biomasa, ésta presentó un mayor incremento en los triploides a partir de los 283 días y en adelante, y ambas ploidías presentaron un decremento entre los días 406 y 476, el cual fue aparentemente mayor para los diploides que para los triploides, aunque en ninguna de las ploidías la media de la biomasa al día 406 difirió de la encontrada el día 476 (Fig. 9). En cambio, para peso de músculo, la interacción observada fue el resultado tanto del mejor crecimiento en músculo de los triploides a partir de los 282 días de cultivo, así como fue causada por un decremento altamente significativo en el peso del músculo en los

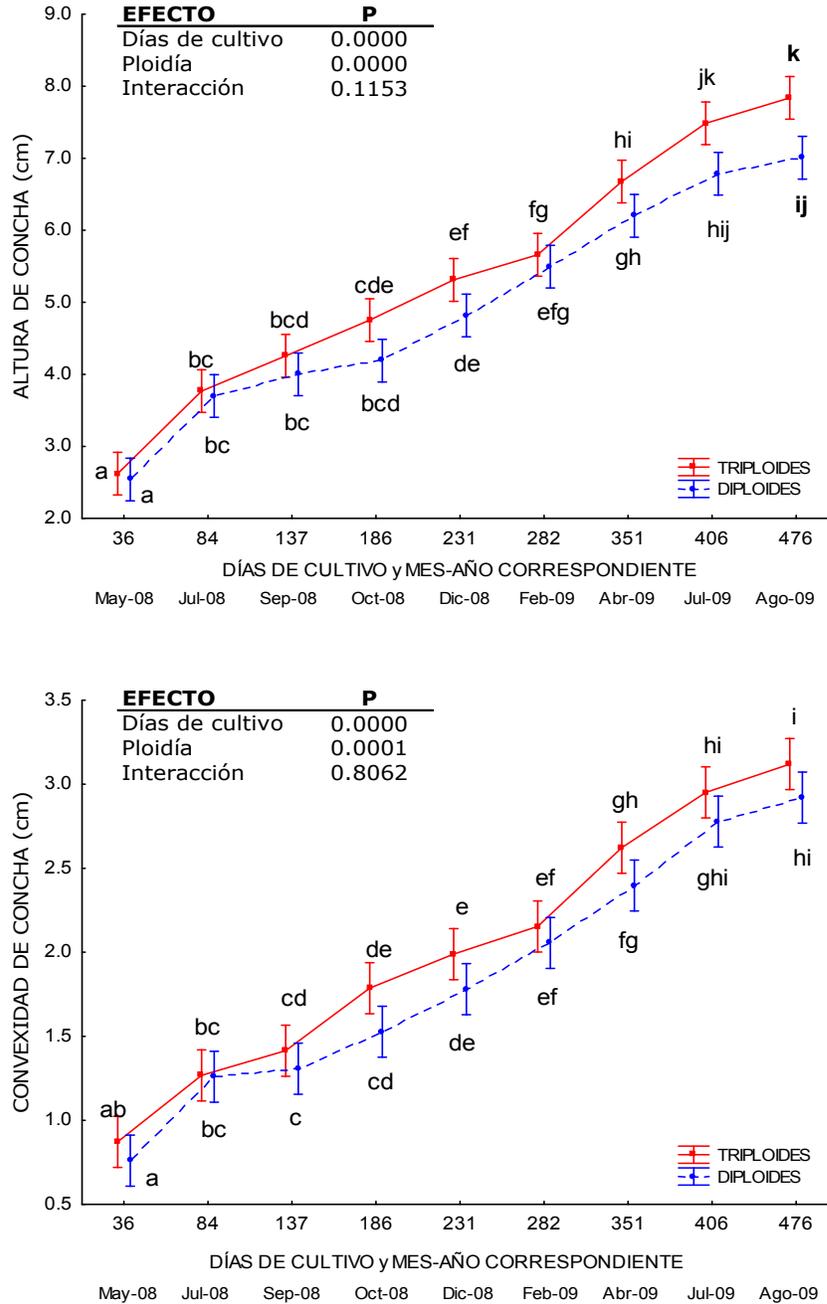


Figura 8. Crecimiento en altura y convexidad de concha en diploides y triploides de almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* durante el periodo de cultivo en Bahía de Loreto. Se incluyen los resultados del ANOVA. Letras diferentes en negritas para cualquier edad indican diferencias estadísticamente significativas entre diploides y triploides a la edad donde estas aparecen.

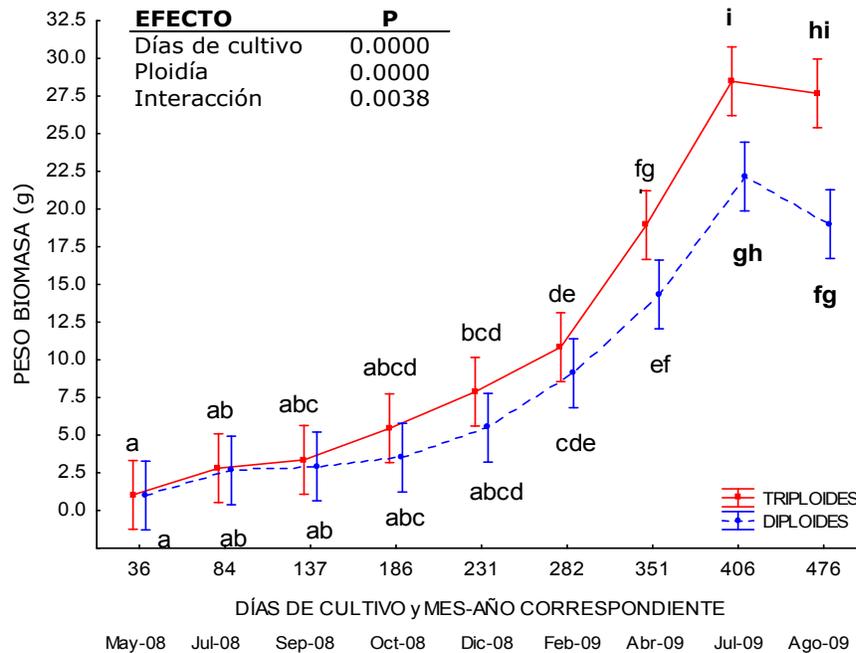
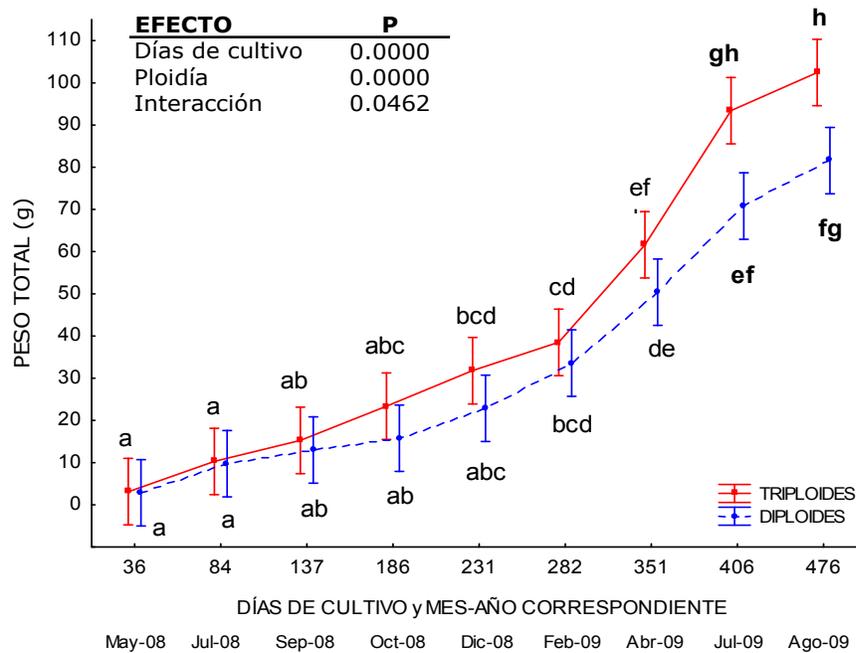


Figura 9. Crecimiento en peso total (vivo) y peso de biomasa o tejidos en diploides y triploides de almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* durante el periodo de cultivo en Bahía de Loreto. Se incluyen los resultados del ANOVA. Letras diferentes en negritas para cualquier edad indican diferencias estadísticamente significativas entre diploides y triploides a la edad donde estas aparecen.

diploides entre los días 406 y 476 de cultivo, periodo en el cual los triploides no mostraron un decremento significativo del peso del músculo, aunque tampoco mostró un incremento entre esas mismas edades (Fig. 10).

En la tabla 3 se presentan los valores medios de los diferentes caracteres evaluados tanto en el promedio de los meses de cultivo como al final del estudio (476d). El caracter con el mayor porcentaje de superioridad de los triploides sobre los diploides fue el peso de músculo, resultando ser un 76% mayor que en los diploides al final del cultivo.

Tabla 3. Medias de los diferentes caracteres de crecimiento evaluados en diploides y triploides de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* en Bahía de Loreto. (♦) Promedio de meses de evaluación; (♣) Medias por caracter al final del estudio (día 476); %3N>2N_{476d} representa el porcentaje de superioridad en triploides a los 476d; Tasa de crecimiento por día (e.e. = error estándar).

Caracteres morfométricos	Ploidía	Promedio meses de estudio (♦)	Media final (476 d de cultivo) (♣)	% 3N > 2N 476d	Tasa de crecimiento por día (e.e.)
Longitud de concha (cm)	Diploides	4.82 ^A	6.92 ^a		0.107 mm (0.006)
	Triploides	5.27 ^B	7.83 ^b	13.2	0.122 mm (0.005)
Altura de concha (cm)	Diploides	4.97 ^A	7.01 ^a		0.105 mm (0.006)
	Triploides	5.37 ^B	7.84 ^b	11.8	0.118 mm (0.004)
Convexidad de concha (cm)	Diploides	1.87 ^A	2.92 ^a		0.050 mm (0.002)
	Triploides	2.02 ^B	3.12 ^b	6.8	0.052 mm (0.002)
Peso Total o Vivo (g)	Diploides	33.40 ^A	81.58 ^a		0.172 g (0.016)
	Triploides	42.20 ^B	102.45 ^b	25.6	0.219 g (0.021)
Peso de Biomasa (g)	Diploides	8.91 ^A	19.00 ^a		0.046 g (0.006) ^a
	Triploides	11.83 ^B	27.67 ^b	45.6	0.063 g (0.007) ^b
Peso de Músculo (g)	Diploides	3.75 ^A	7.00 ^a		0.024 g (0.004) ^a
	Triploides	5.69 ^B	12.32 ^b	76.0	0.039 g (0.005) ^b

Diferentes letras en superíndice entre medias para cada ploidía y caracter indican diferencias significativas (P<0.05): en mayúsculas denota diferencias a lo largo del estudio, y en minúsculas diferencias al final del cultivo.

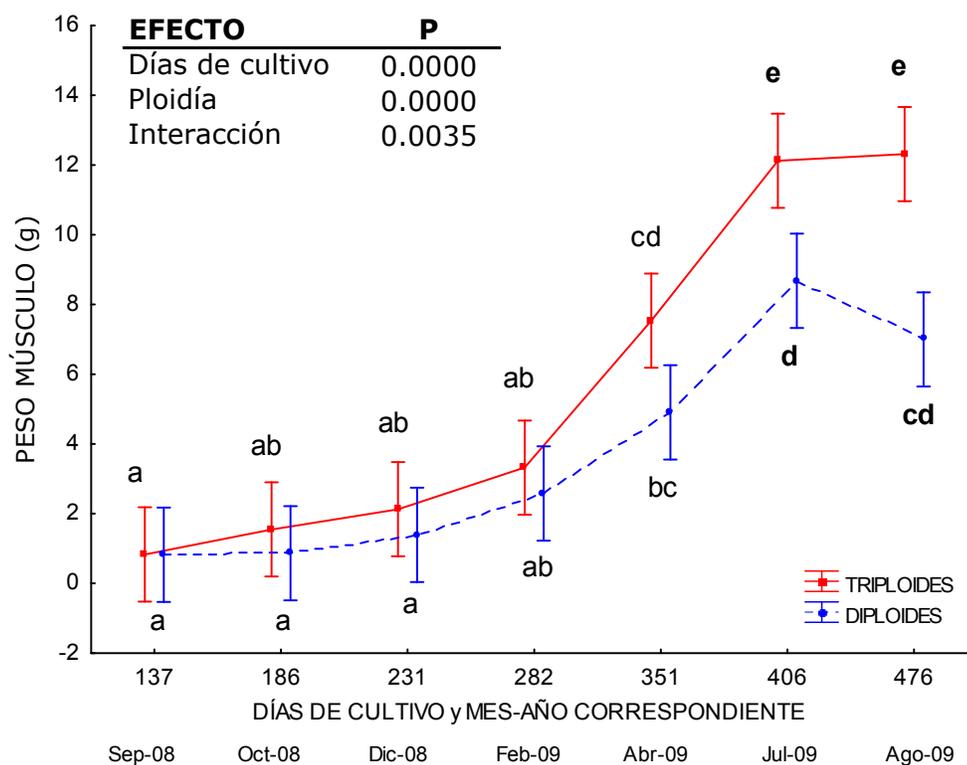


Figura 10. Crecimiento en peso de músculo aductor en diploides y triploides de almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* durante el periodo de cultivo en Bahía de Loreto. Se incluyen los resultados del ANOVA. Letras diferentes en negritas para cualquier edad indican diferencias estadísticamente significativas entre diploides y triploides a la edad donde estas aparecen.

7.2. Tasa de crecimiento

La tasa de crecimiento por día para todos los caracteres evaluados fue mayor para el grupo de organismos triploides. Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tasas de crecimiento para los caracteres de crecimiento de la concha, estos fueron mayores para el grupo triploide (Tabla 3) (Fig. 11). En cuanto a las tasas de crecimiento de peso total, peso de biomasa y peso de músculo, de igual manera estas fueron mayores para el grupo triploide, aunque solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tasas

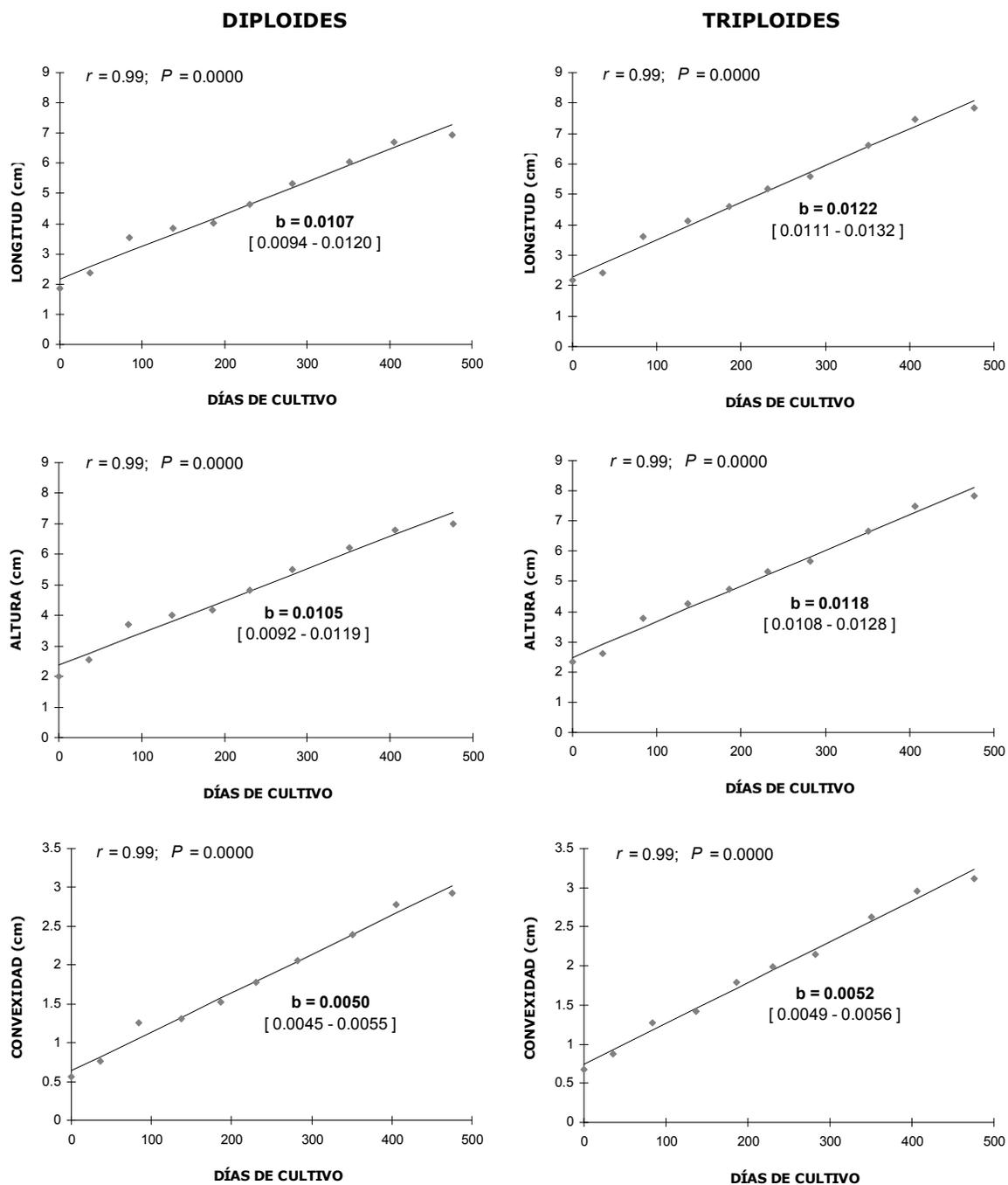


Figura 11. Tasas de crecimiento (b) y sus intervalos de confianza [IC_{mín} - IC_{máx}] para longitud, altura y convexidad de la concha, en diploides y triploides de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cultivada en Bahía de Loreto B.C.S. r = correlación; P = significancia.

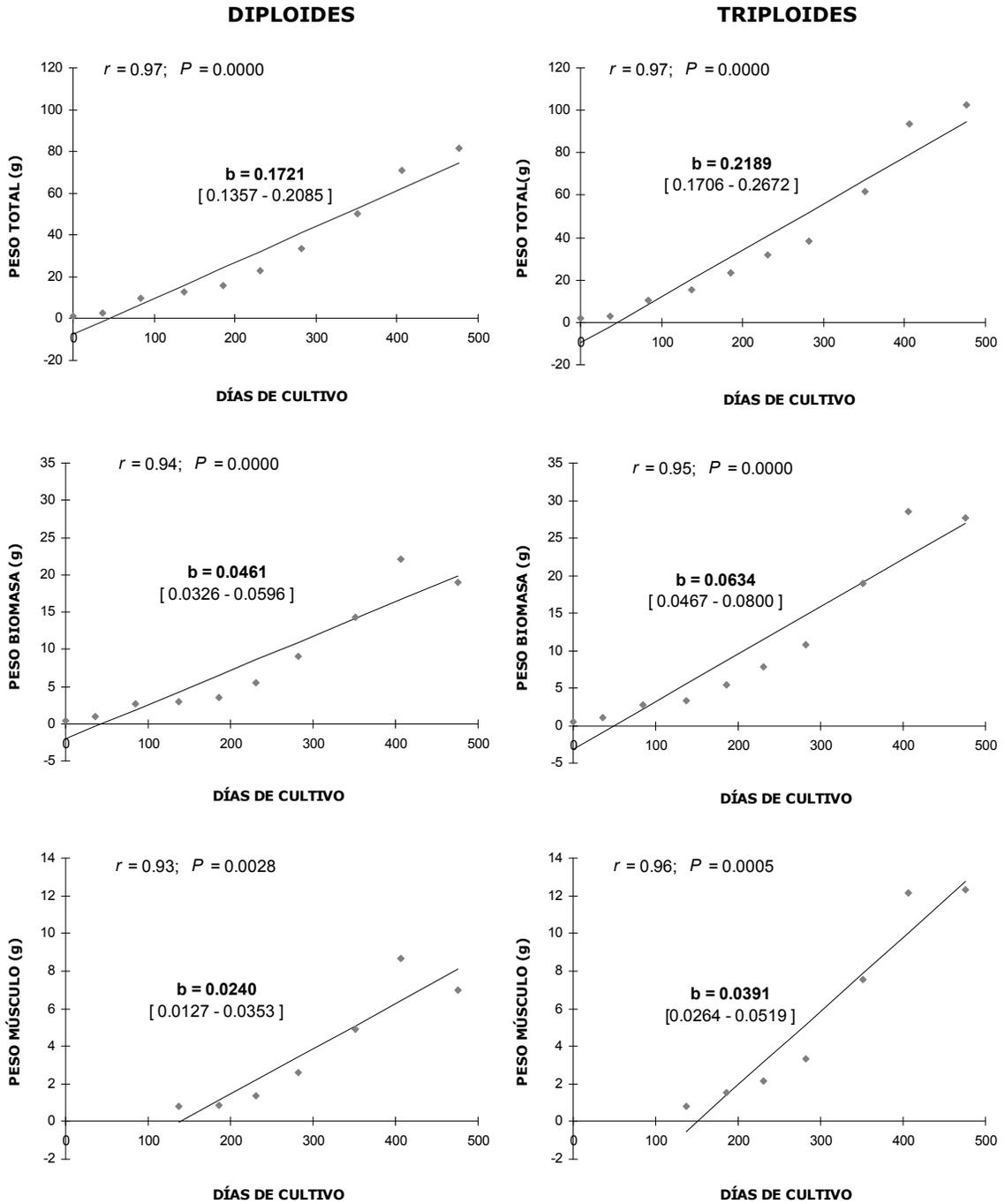


Figura 12. Tasas de crecimiento (b) y sus intervalos de confianza [IC_{mín} - IC_{máx}] para peso total, peso de biomasa y peso de músculo aductor, en diploides y triploides de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cultivada en Bahía de Loreto B.C.S. r = correlación; P = significancia

de crecimiento en peso de biomasa y peso de músculo. En particular, la tasa de crecimiento de los triploides para biomasa (0.063 g día^{-1}) comparada con los diploides (0.046 g día^{-1}) fue 73% mayor, y la tasa de crecimiento de los triploides en peso de músculo (0.039 g día^{-1}) comparada con los diploides (0.024 g día^{-1}) fue 61% mayor (Tabla 3) (Fig. 12).

7.3. Índice de músculo e índice gonadal

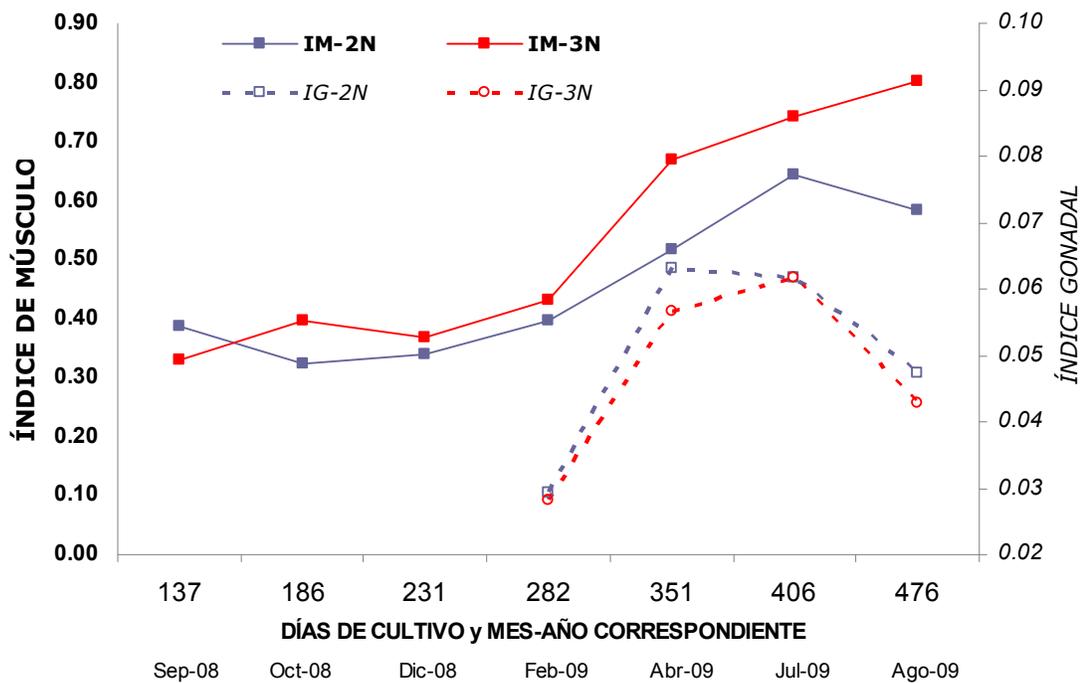
El índice promedio de músculo fue mayor para el grupo triploide, encontrándose una diferencia significativa entre las medias de ambos grupos a los 476 días de edad de cultivo (Tabla 4), así como una interacción significativa (Fig. 13) como resultado de un decremento del índice de músculo en los diploides al final de la evaluación en agosto de 2009 (476 días de edad).

En cambio, en el índice gonadal no se encontraron diferencias significativas entre ploidías ni interacción entre ploidía y edad (Tabla 4). Sólo se encontró un efecto significativo de los días en cultivo, causado por un aumento del índice gonadal en los días 351 y 406 de cultivo (abril–junio 2009), que difirieron de los índices encontrados antes y después (282d y 476d), los cuales no difieren entre ellos (Fig. 13).

Tabla 4. Medias de los índices, evaluados en diploides y triploides de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* en Bahía de Loreto. (♦) Promedio de meses de evaluación; (♠) Medias por carácter al final del estudio (día 476); %3N>2N_{476d} representa el porcentaje de superioridad en triploides a los 476d.

Índices ⁽¹⁾	Ploidía	Promedio meses de estudio (♦)	Media final (476 d de cultivo) (♠)	3N > 2N 476d
Índice de Músculo	Diploides	0.46 ^A	0.90 ^a	23.3
	Triploides	0.54 ^B	1.11 ^b	
Índice Gonadal	Diploides	0.049 ^A	0.047 ^a	-9.4
	Triploides	0.046 ^A	0.043 ^a	

(1) Los índices se presentan retransformados de arcoseno. Diferentes letras en superíndices indican diferencias significativas entre medias ($P > 0.05$): en mayúsculas denota diferencias a lo largo del estudio, y en minúsculas diferencias al final del cultivo.



Índice de Músculo

EFFECTO	P
Días de cultivo	0.0000
Ploidía	0.0005
Interacción	0.0223

Índice Gonadal

EFFECTO	P
Días de cultivo	0.0000
Ploidía	0.3227
Interacción	0.8969

Figura 13. Índices de Músculo y Gonadal en diploides y triploides de almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* durante el periodo de cultivo en que se evaluaron estos índices en Bahía de Loreto. Los resultados de los ANOVA's se presentan en la parte inferior.

7.4. Supervivencia

No se encontraron diferencias significativas en supervivencia entre ambos grupos a través del tiempo de evaluación, ni interacción, pero si se observó un efecto de la edad en la supervivencia. Este efecto se debe a que en las edades de cultivo de 84 a

186 días (julio-octubre del 2008), se observó una menor supervivencia, estadísticamente significativa, respecto al resto de los días de cultivo. El promedio de supervivencia en el tiempo de evaluación fue del 97% para ambos grupos (Fig. 14).

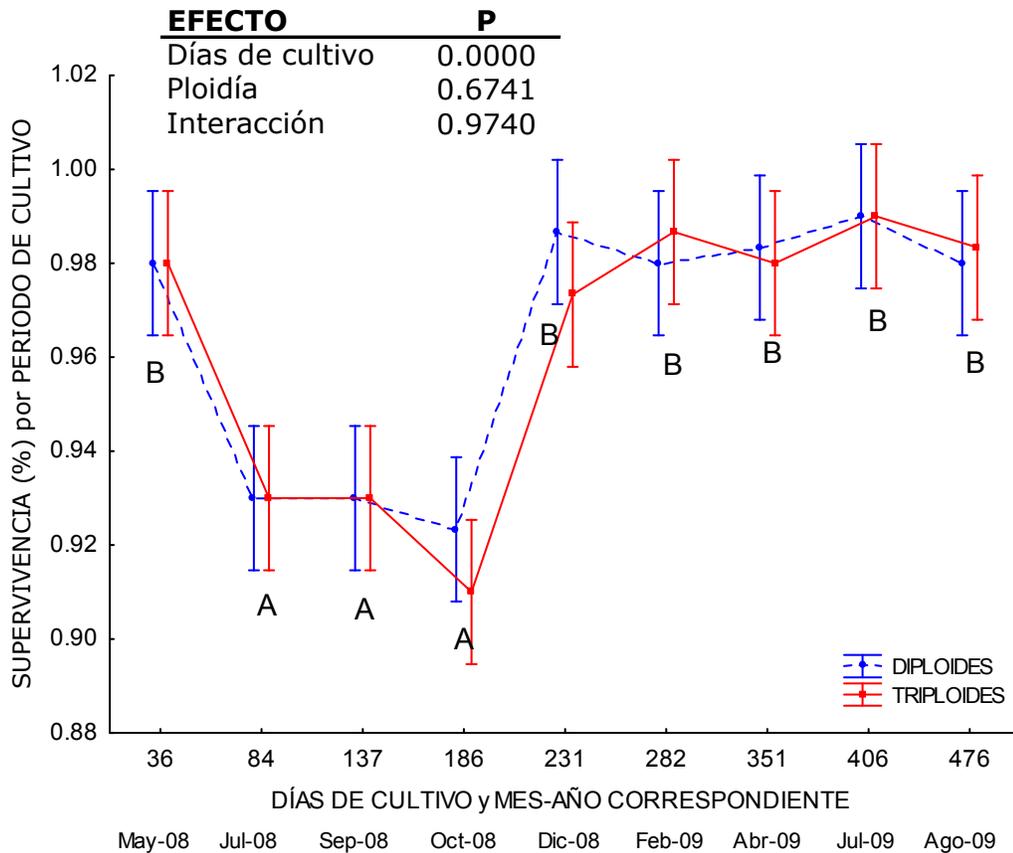


Figura 14. Supervivencia (en porcentajes) de diploides y triploides de almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus*, estimada entre periodos de evaluación del cultivo en Bahía de Loreto. Se incluyen en la gráfica los resultados del ANOVA. No se observaron diferencias entre ploidías, pero sí entre periodos de cultivo: diferentes letras mayúsculas indican diferencias en supervivencia entre periodos de cultivo.

7.5. Desarrollo gonádico y grado de esterilidad en triploides

Para el grupo control diploide se observó que los organismos estuvieron indiferenciados hasta la edad de 351 días, que corresponde a abril de 2009. La primera madurez gonádica se encontró a partir del día 406 (junio de 2009), cuando estos alcanzaron una talla promedio de 6.6 cm. En este periodo, el 50% de los organismos estaban en estadios de desarrollo gonádico avanzado y madurez, en ambas porciones de la gónada (masculina y femenina). Al final del período de cultivo, a los 476 días (agosto del 2009) el 30% de los organismos se encontraban en estadios de madurez, desove y posdesove, aunque la mayoría se encontró en estadio indiferenciado (Fig. 15). En contraste, en el grupo de los triploides, el análisis histológico evidenció una esterilidad del 100% de los organismos, esto es, la totalidad estaban en estadio de indiferenciado en ambas porciones (femenina y masculina), y permanecieron así hasta el final de las evaluaciones, a los 476 días de cultivo (Fig. 16).

Por otro lado, cuando en el grupo diploide se presentó la primera madurez (día 406, talla promedio de 6.6 cm), los organismos triploides tenían una talla mayor (talla promedio de 7.5 cm de longitud), sin embargo, en este grupo solamente se encontraron células germinales (oogonias o espermatogónias) (Fig. 17). La estimación de número de ovocitos promedio por acino para cada una de las ploidías se presenta en la tabla 5.

Tabla 5. Número promedio de ovocitos vitelogénicos y posvitelogénicos por acino en organismos triploides y diploides a la edad de primera madurez gonádica del grupo control diploide (406 días de cultivo) en la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*.

Ploidía	Número promedio de ovocitos (Vit y posvit) por acino en todos los individuos	Número promedio de ovocitos (Vit y posvit) por acino en individuos maduros
Diploides	5.32	11.98
Triploides	0	0

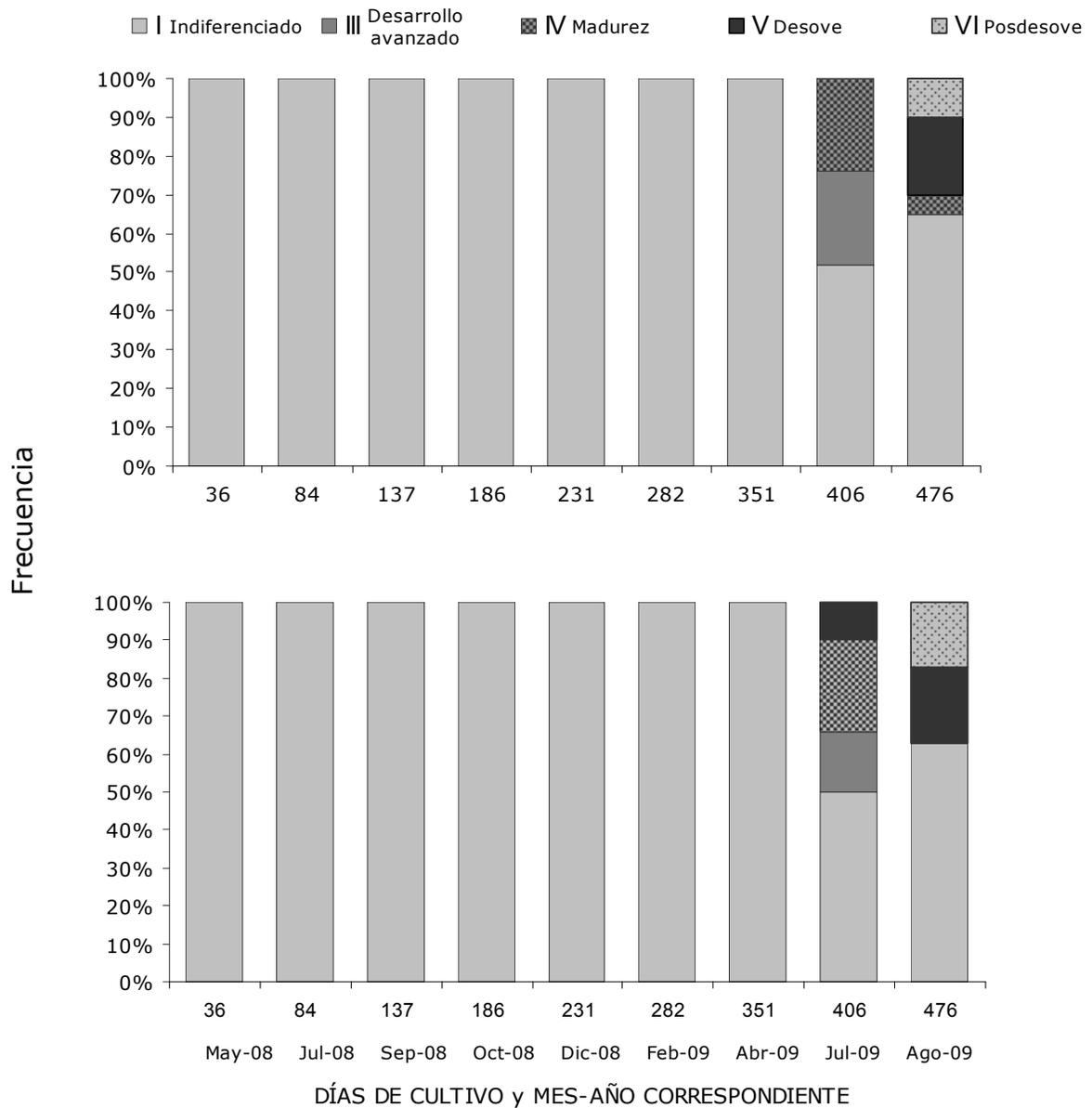


Figura 15. Estadios de desarrollo gonádico encontrados en diploides de la almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* en el periodo de evaluación. Porción femenina (arriba) y masculina (abajo) de la gónada.

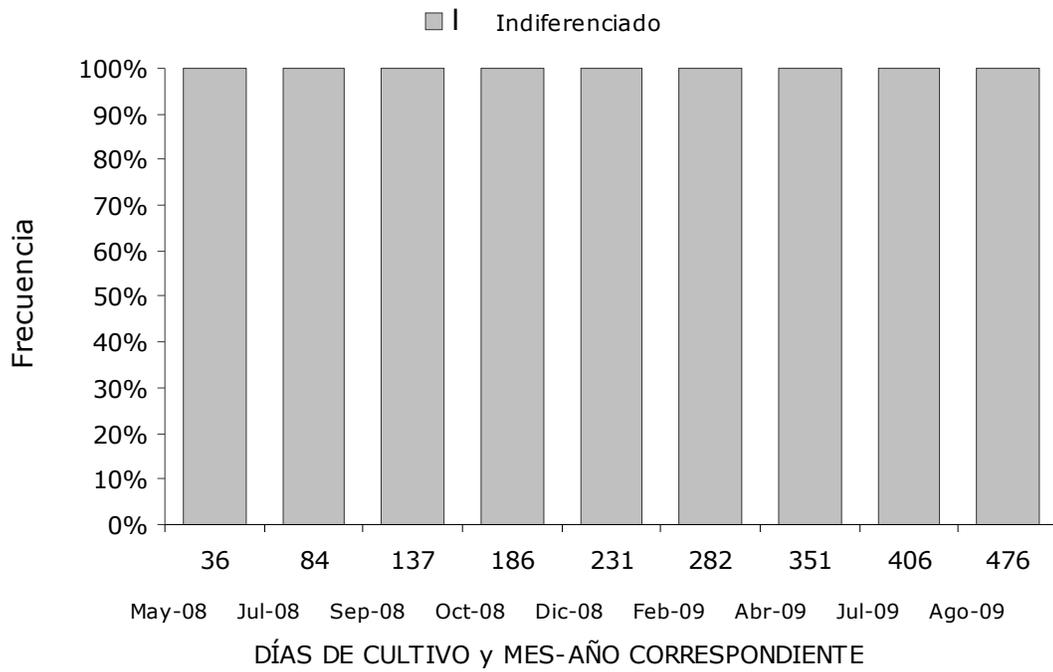


Figura 16. Estadio de desarrollo gonádico encontrado en triploides de la almeja mano de león, *Nodipecten subnodosus* en el periodo de evaluación.

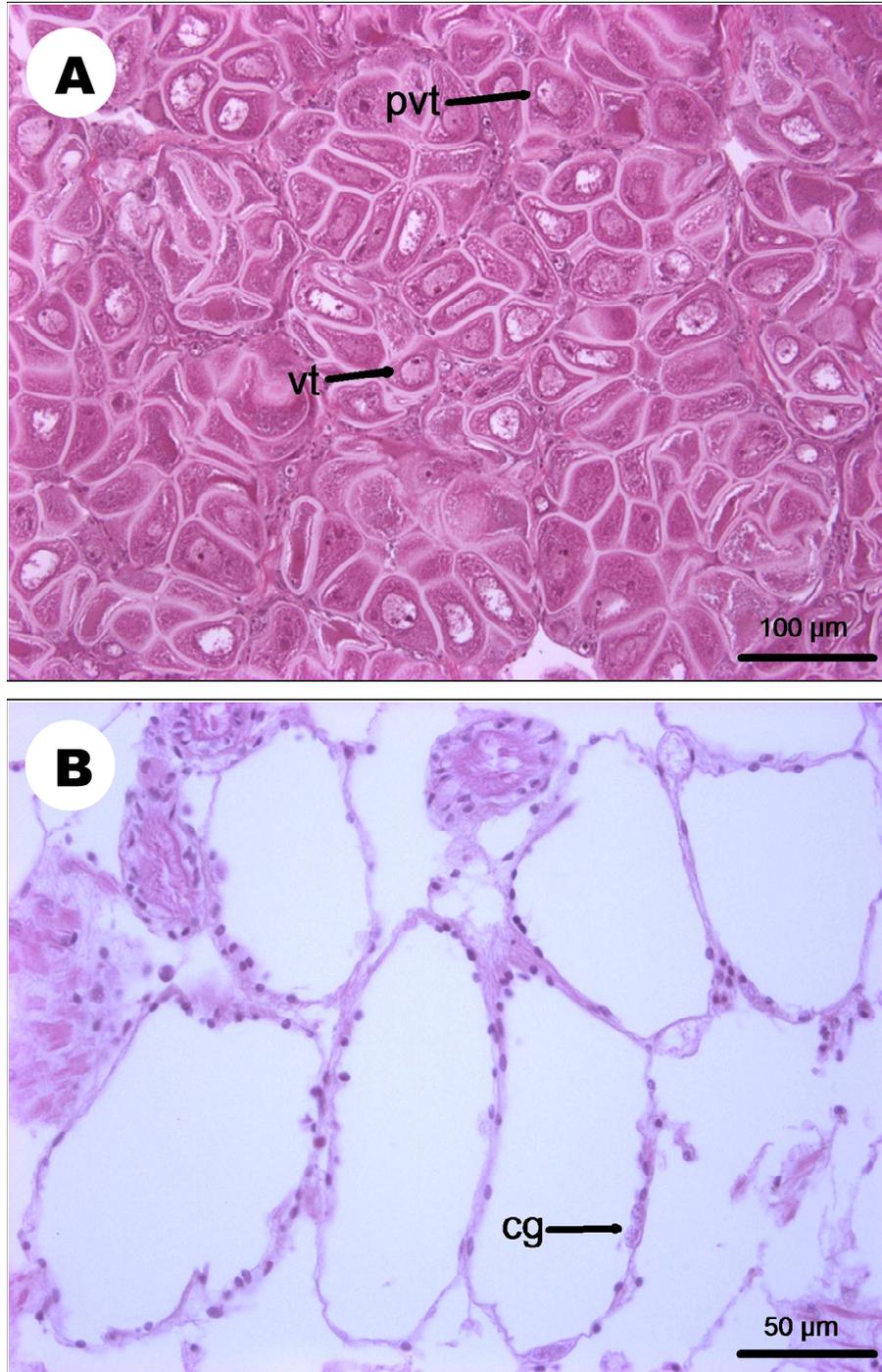


Figura 17. Microfotografías de la porción femenina de la gónada de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* en (A) Diploides: Acinos con ovocitos vitelogénicos (vt) y posvitelogénicos (pvt) encontrados en la porción femenina de la gónada a la edad de primera madurez sexual (406 días de cultivo); y (B) Triploides: Acinos vacíos en los que sólo se observan células germinales (cg) a los 406 días de cultivo.

7.6. Variables ambientales

En la figura 18 se presenta la variación de la temperatura del agua y la concentración de clorofila-*a*. La temperatura del agua en el sitio de estudio varió estacionalmente durante el periodo de estudio. En mayo de 2008 la temperatura (23.4°C) del agua comenzó a incrementarse hasta un máximo en septiembre (29.7°C). Sin embargo, ésta comenzó a disminuir gradualmente en octubre, lo cual se prolongó en los siguientes meses hasta llegar a la temperatura más baja en abril de 2009 (20.1°C). A partir de junio de 2009, la temperatura se incrementó nuevamente hasta un máximo en agosto de 2009 (28.9°C).

Por su parte, la concentración de clorofila-*a*, al igual que la temperatura, varió estacionalmente durante el periodo de estudio. En contraste con la variación de temperatura, en mayo de 2008 se observó la mayor concentración de clorofila-*a* (2.84 mg m⁻³). Sin embargo, ésta disminuyó durante los siguientes meses hasta un mínimo en septiembre del mismo año (0.37 mg m⁻³). A partir de este mes se registró un aumento gradual hasta abril de 2009, donde se observó el promedio más alto para este año (2.61 mg m⁻³). En 2009 al igual que durante 2008, la concentración de clorofila-*a* mostró una disminución gradual hasta el último mes de evaluación (agosto de 2009) cuando se registró nuevamente una baja concentración de clorofila-*a* (0.49 mg m⁻³).

7.6.1. Relación entre temperatura y clorofila-*a*

Las variables ambientales registradas, temperatura y clorofila-*a*, mostraron una relación inversa marcada: en los meses en que se registró la mayor temperatura también se registró la menor cantidad de clorofila-*a* (Fig. 18).

El análisis de correlación mostró una relación inversa significativa ($r = -0.90$, P menor a 0.001) entre estas dos variables (Fig. 19).

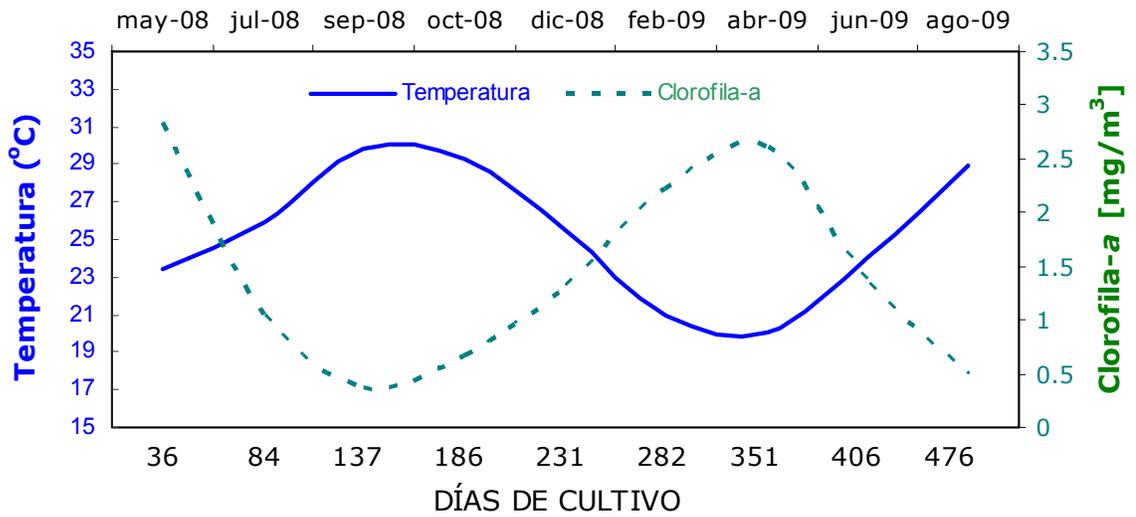


Figura 18. Variables ambientales de temperatura y clorofila-a promedio registradas en Puerto Escondido, Bahía de Loreto B.C.S., México, durante el periodo de evaluación.

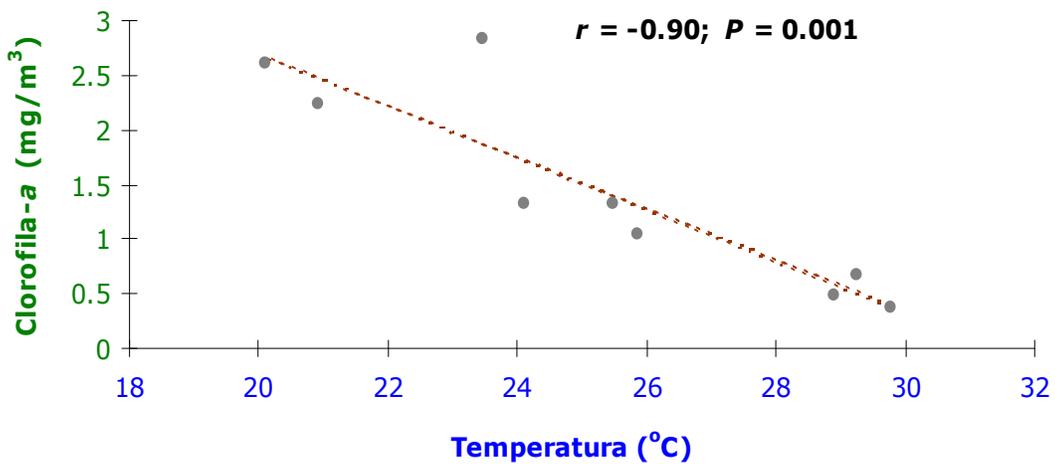


Figura 19. Relación inversa de la temperatura y clorofila-a observadas durante el presente estudio en Bahía de Loreto, B.C.S.

8. DISCUSION

8.1. Crecimiento de diploides y triploides

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron una superioridad del crecimiento en todos los caracteres medidos de los organismos triploides sobre los diploides de *Nodipecten subnodosus*. Esta ventaja en el crecimiento está relacionada en primera instancia con las condiciones ambientales presentes en este sitio de evaluación, como son las altas temperaturas en verano y la baja cantidad de alimento disponible que acompaña esas altas temperaturas, y una ventaja adicional presenta al final del cultivo, asociada con la esterilidad en los triploides.

La diferencia de crecimiento de los triploides vs. diploides encontrado en este trabajo difiere de lo reportado por Maldonado-Amparo et al. (2004) para esta misma especie en Bahía Magdalena B.C.S., quienes no encontraron diferencias en crecimiento entre ploidias. Lo anterior fue atribuido a la alta disponibilidad de alimento que presenta Bahía Magdalena, un sistema costero considerado como un sitio de alta productividad biológica (Hernández-Rivas et al., 1993). Asociado a esa alta productividad, los autores propusieron dos hipótesis para explicar la desventaja en crecimiento de los triploides; la primera se sustentó en resultados encontrados en *Saccostrea commercialis* en Australia (Kesarcodi-Watson et al., 2001b), en donde se demostró que los triploides presentan una mayor tasa de filtración que los diploides, lo cual a su vez resultó en un mayor gasto energético de los triploides en ambientes con alta disponibilidad de alimento (debido a un aumento en la tasa de respiración y excreción en comparación con los diploides). La segunda hipótesis se sustentó en estudios previos en este mismo sitio con la misma especie (Racotta et al., 2003), en donde se concluyó que la población de Ojo de Liebre, cuando es trasladada a Bahía Magdalena, presenta una estrategia reproductiva de tipo oportunista, lo cual implica que no existe un almacenamiento de energía para la maduración, sino que esta energía es adquirida directamente del alimento disponible en el medio.

La primera hipótesis propuesta por estos autores para explicar la desventaja en crecimiento de los triploides sobre los diploides en un ambiente con alta disponibilidad de alimento se confirma en este estudio, al observar ventajas en crecimiento de los triploides en este nuevo sitio, un ambiente que presentó en forma general menor productividad primaria y mayores temperaturas, y también mostró una clara estacionalidad en el crecimiento diferencial entre diploides y triploides. Esto es, al considerar los incrementos absolutos en peso total por periodo a la largo de este estudio (Fig. 20), se observó un mayor crecimiento de los triploides respecto a los diploides, cuando se presentan condiciones de menores concentraciones de alimento y altas temperaturas.

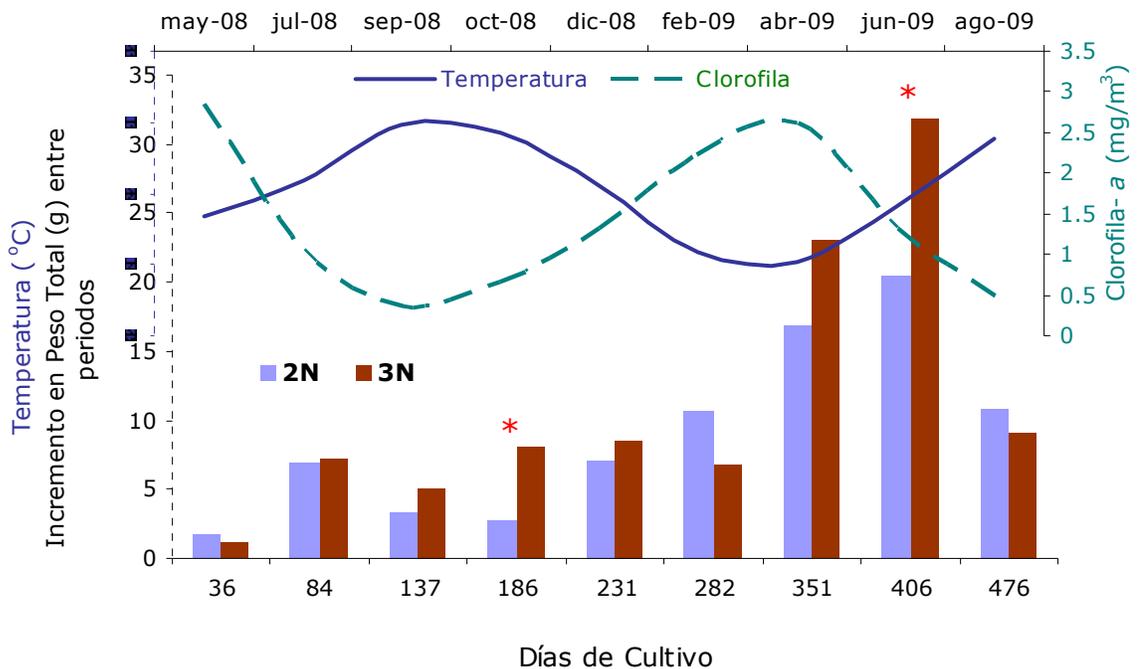


Figura 20. Relación entre los incrementos absolutos en peso total por periodo para diploides (2N) y triploides (3N) de *Nodipecten subnodosus* con las variables ambientales registradas (temperatura y cantidad de clorofila-a) a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto, B.C.S., México. * indica cuando se encontraron diferencias significativas entre ploidías en el análisis *a posteriori* de medias por edad.

En el presente estudio esta tendencia fue claramente observada desde la primera parte del ciclo de vida, a partir de los 137 días y hasta los 186 días en cultivo, entre agosto y hasta noviembre de 2008, cuando se registraron las máximas temperaturas y la mínima cantidad de alimento en el medio. Lo anterior permite inferir que la condición de triploidía en la almeja mano de león, *N. subnodosus* sí le confiere un mayor marco de actividad sobre los diploides, pero sólo cuando se presentan condiciones de menor concentración de alimento, lo que posiblemente le permite disponer de más energía para crecimiento, en comparación con los diploides bajo esas condiciones. Esto puede ser comparado con lo encontrado para la misma especie por Maldonado-Amparo et al. (2004) donde los diploides y triploides presentaron el mismo crecimiento, incluyendo el del músculo aductor, en un sitio no limitante por alimento. El efecto de diferentes condiciones ambientales sobre la manifestación de la superioridad de crecimiento de los triploides ha sido demostrado para otra especie, el ostión del Pacífico, *Crassostrea gigas*. Ascencio-Michel (2008) encontró que el rendimiento obtenido en triploides de este ostión superó significativamente el de los diploides, pero esto solamente ocurrió en sitios de cultivo en el Golfo de California, en donde la productividad primaria promedio es menor en asociación a altas temperaturas durante los meses de verano. Grupos hermanos de esos diploides y triploides fueron evaluados en paralelo en Bahía Magdalena, el mismo sitio utilizado por Maldonado-Amparo et al. (2004) y caracterizado por una elevada productividad, y en donde no observaron diferencias en crecimiento entre diploides y triploides.

Por otro lado, en este estudio se observó que los diploides de almeja mano de león presentaron un mejor crecimiento que los triploides únicamente a los 282 días de cultivo (ver Fig. 20), lo cual provee evidencia que también confirma la segunda hipótesis propuesta por Maldonado-Amparo et al. (2004) para explicar la falta de diferencias en crecimiento entre diploides y triploides en asociación a la estrategia reproductiva adquirida por esta especie, según las condiciones ambientales donde se le cultiva. Esto es, en el presente estudio, a los 282 días de cultivo en febrero de 2009, cuando la temperatura fue de 20.9°C y la cantidad de clorofila-a registró el segundo valor más alto durante este estudio (2.23 mg m⁻³), ocurrió un mayor

incremento en el peso total, así como en peso de biomasa (Fig. 21A) en los diploides que en los triploides. Sin embargo, esto no se tradujo en un mayor incremento en el peso del músculo aductor en los diploides, comparativamente con los triploides (Fig. 21B).

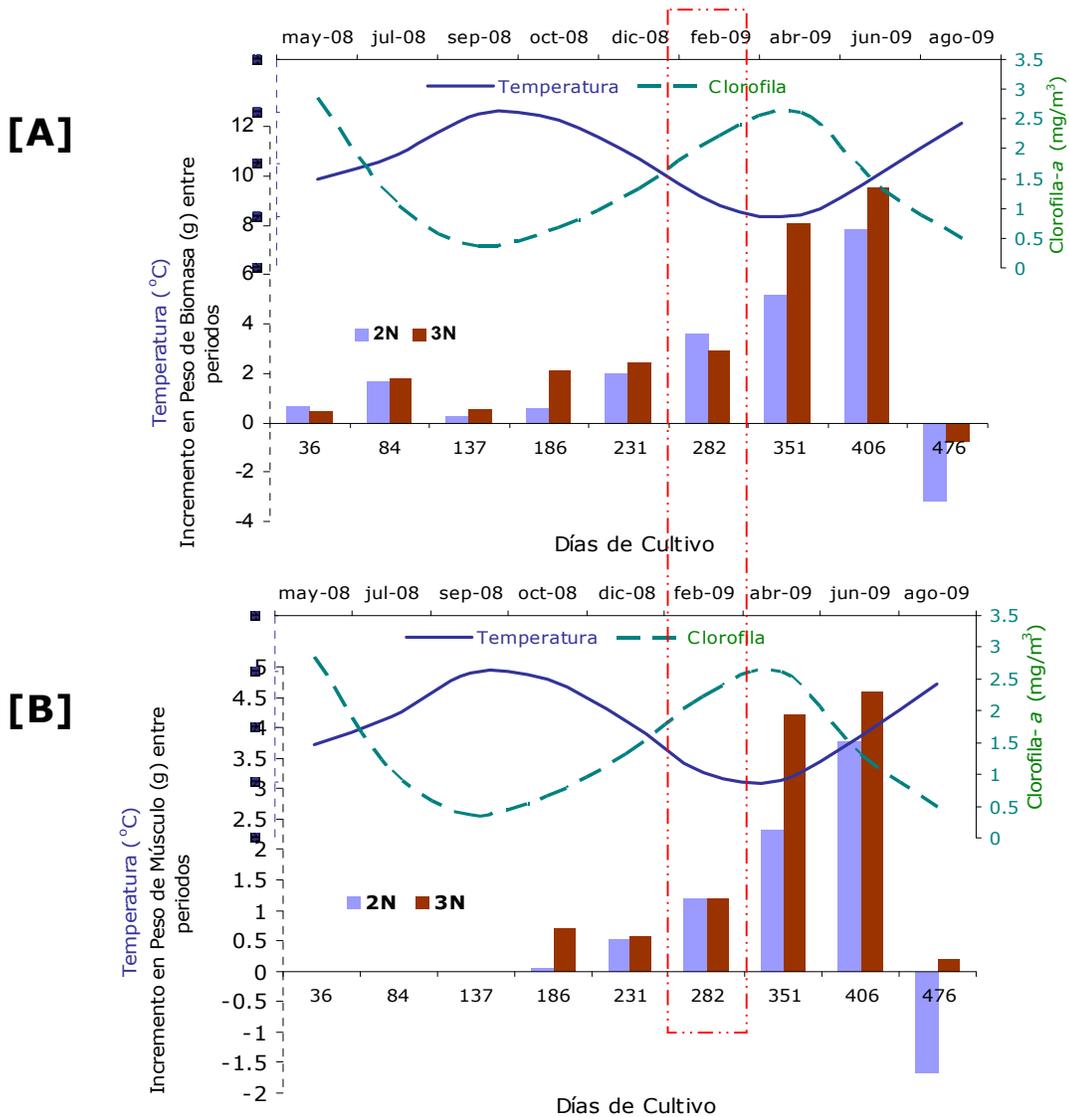


Figura 21. Relación entre los incrementos absolutos en peso de biomasa [A] y de músculo aductor [B] por periodo para diploides (2N) y triploides (3N) de *Nodipecten subnodosus* con las variables ambientales registradas (temperatura y cantidad de clorofila-a) a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto, B.C.S., México. En el recuadro rojo se denota el día 282 (febrero 2009) cuando los diploides incrementaron en peso de biomasa pero no en peso de músculo.

Esto puede ser explicado por la desviación parcial de la energía obtenida durante esos meses de alta productividad para dar inicio a los procesos de desarrollo de gónada, sugiriendo que la población de Bahía de Loreto presenta una estrategia reproductiva de tipo conservativa, y no oportunista como fue observado para Bahía Magdalena. Entre el periodo justo posterior a observar el mayor incremento en peso total de diploides que triploides, de los 282 días a los 351 días, la gónada en organismos diploides incrementó su peso en un 203%, y esto a su vez coincidió con el período antes de observar una tendencia a una relación inversa entre el índice muscular y el gonadal (de los 351 días a los 406 días de cultivo), así como con los primeros indicios de gametogénesis y madurez gonádica de una proporción de la población de diploides el día 406. Por lo observado en el presente estudio, se puede inferir la utilización de reservas para ayudar a soportar la gametogénesis, lo cual ocurre en detrimento del crecimiento muscular, y es corroborado por una relación negativa entre el índice muscular y gonadal entre los días 351 y 406 (abril a junio 2009). Contrariamente, Racotta et al. (2008) reportaron que no existe una asociación negativa entre índice muscular y gonadal entre los meses de madurez gonádica de esta especie, cuando es cultivada en Bahía Magdalena. Así mismo, y a pesar de observarse un incremento en la acumulación de reservas energéticas en el músculo de los mismos organismos experimentales diploides y triploides evaluados para crecimiento por Maldonado-Amparo et al. (2004) en Bahía Magdalena, no se observaron diferencias entre diploides y triploides en la acumulación o utilización de esas reservas durante la gametogénesis y vitelogénesis en diploides.

Evidencia adicional de la estrategia reproductiva conservativa que presenta esta especie en Bahía de Loreto se deriva del hecho de que, adicionalmente al mayor crecimiento de los triploides durante los meses de julio a octubre de 2008, los mayores crecimientos de los triploides en el presente trabajo se observaron a partir de que los organismos diploides llegaron a la primera madurez sexual a los 406 días de cultivo, en junio del 2009, y posteriormente al desove parcial de los diploides a los 476 días, en el mes de agosto del 2009, mientras que los organismos triploides mantuvieron una esterilidad total durante todo el tiempo de cultivo. Las ventajas en crecimiento se observaron para todas las variables morfométricas evaluadas al final

del cultivo (día 476), y en donde las más notables fueron el peso del músculo y de la biomasa. Para el peso del músculo se observó una superioridad de los organismos triploides sobre los diploides del 70%, mientras que en biomasa fue de 45.6% respecto a los diploides.

Esta ventaja adicional de los triploides al final del cultivo puede ser explicada por su esterilidad, lo que resulta en un nulo o reducido esfuerzo reproductivo y el consecuente mantenimiento de las reservas energéticas, que a diferencia de los organismos diploides, no son utilizadas para la maduración. Similarmente a lo reportado para otras especies de moluscos (Tabarini, 1984; Allen & Downing, 1986; Komaru & Wada, 1989; Allen & Downing, 1990; Beaumont & Fairbrother, 1991; Ruiz-Verdugo et al., 2000), las diferencias entre diploides y triploides se magnificaron durante el inicio de la maduración gonádica de los organismos diploides. Aunque en este estudio no se evaluó si existió almacenamiento de energía en forma de componentes bioquímicos en músculo, gónada o glándula digestiva para su posterior transferencia a la gónada para su utilización en la maduración gonádica, como ha sido observado en otros estudios (Racotta et al., 2003; Arellano-Martínez et al., 2004b), algunas inferencias pueden ser derivadas de los resultados. Esto es, debido a que el desarrollo gonadal, de aproximadamente el 50% de los diploides ocurrió entre los días 351 y 406, (entre abril y junio de 2009), cuando la concentración de clorofila-*a* fue la más alta (abril 2009: 2.61 mg m⁻³), puede inferirse que en Bahía de Loreto, la almeja mano de león pudiera presentar un almacenamiento de nutrientes en épocas de alta disponibilidad de alimento (entre los días 231 y 282, o entre diciembre y febrero), y el inició de una transferencia hacia la gónada durante la gametogénesis y maduración de abril a junio, e incluso perdiendo peso del músculo durante el desove en agosto (Fig. 22). La acumulación de reservas energéticas en el músculo y en la glándula digestiva, y su utilización cuando se presentan las condiciones de temperatura para el desarrollo gonádico, ya han sido reportado para *N. subnodosus* (Arellano-Martínez et al., 2004b), para y otras especies de pectinídeos como *Chlamys septemradiata* (Ansell, 1974), *Chlamys opercularis* (Taylor & Venn, 1979), *Placopecten magellanicus* (Robinson et al., 1981), *Argopecten irradians*

concentricus (Barber & Blake, 1981), *Pecten jacobaeus* (Mestre, 1992), *Pecten maximus* (Acosta & Román, 1995; Pazos et al., 1997).

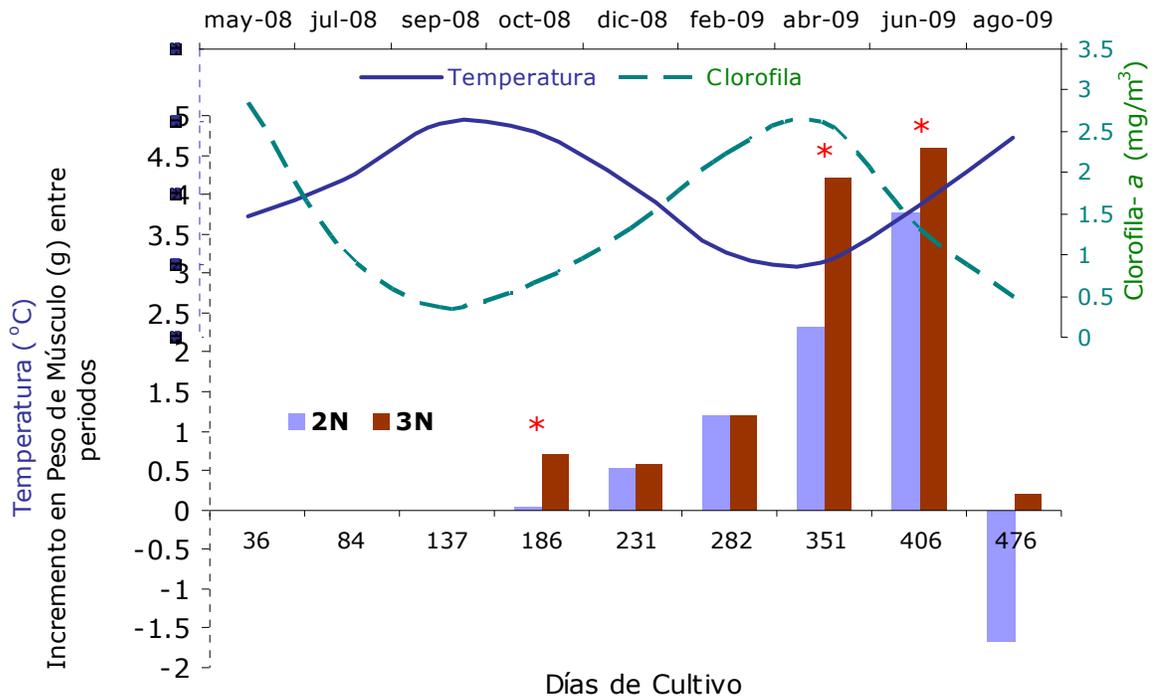


Figura 22. Relación entre los incrementos absolutos en peso de músculo aductor por periodo para diploides (2N) y triploides (3N) de *Nodipecten subnodosus* con las variables ambientales registradas (temperatura y cantidad de clorofila-a) a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto, B.C.S., México. * indica cuando se encontraron diferencias significativas entre ploidías en el análisis *a posteriori* de medias por edad.

Sin embargo, el crecimiento del músculo de los triploides en este mismo mes de agosto, aunque no perdió peso como en los diploides, fue el mínimo registrado durante el estudio, lo que indica un efecto negativo de las altas temperaturas y la mínima disponibilidad de alimento en el crecimiento muscular de los triploides. Por lo tanto, la pérdida de peso en músculo en los diploides y el bajo índice muscular al final del cultivo (476 días), pudo haberse debido tanto a una transferencia de

nutrientes de este tejido hacia la gónada para ser utilizado durante el desove, como su utilización para sostener su metabolismo en estos meses de baja disponibilidad de alimento y altas temperaturas. Lo anterior es apoyado por la pérdida observada en el peso de biomasa incluso en los triploides (Fig. 23).

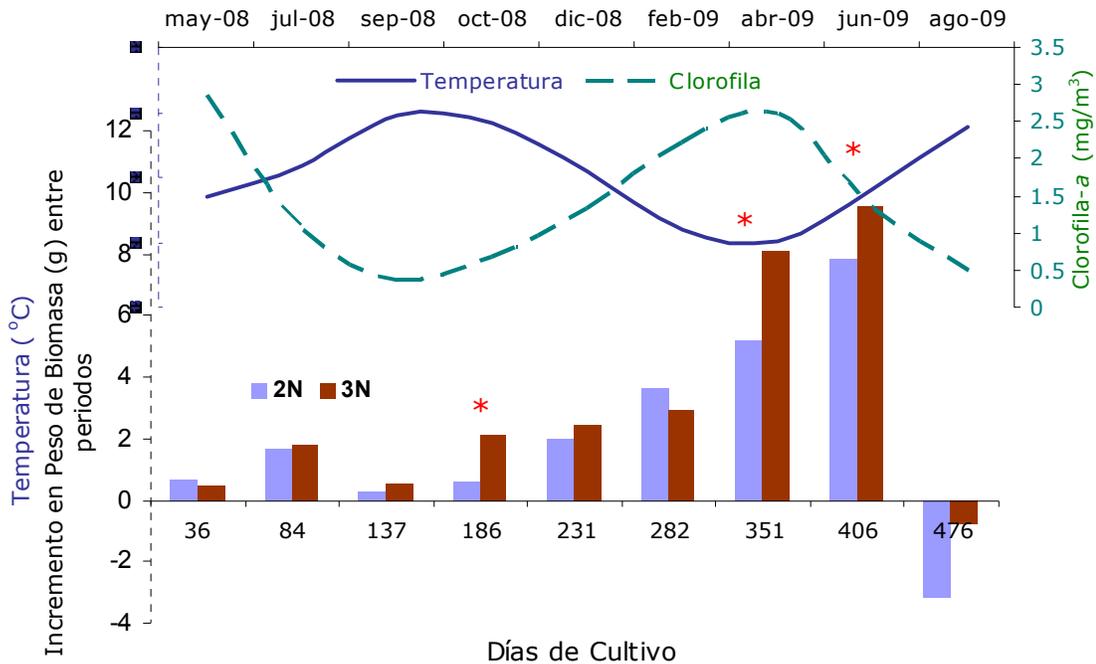


Figura 23. Relación entre los incrementos absolutos en peso de biomasa por periodo para diploides (2N) y triploides (3N) de *Nodipecten subnodosus* con las variables ambientales registradas (temperatura y cantidad de clorofila-a) a lo largo del estudio en Puerto Escondido, Bahía de Loreto, B.C.S., México. * indica cuando se encontraron diferencias significativas entre ploidías en el análisis *a posteriori* de medias por edad.

De manera general, se ha observado en otros pectinídeos que el crecimiento de biomasa es más sensible para reflejar las condiciones ambientales que el crecimiento en peso total o el de la concha (Thompson & MacDonald, 2006). Esto concuerda con lo observado en este estudio, ya que mientras que se encontró un decremento en el peso de la biomasa en ambas ploidías al final del cultivo, el peso

total y la altura de la concha se incrementaron. Sin embargo, la tasa de crecimiento en altura de concha será discutida a continuación.

8.2. Tasas de Crecimiento

8.2.1. Diploides vs. Triploides

La estimación de tasas de crecimiento en el presente estudio fue principalmente con la finalidad de comparar estas tasas entre diploides y triploides de almeja mano de león, cuando ambas ploidías son cultivadas simultáneamente en Bahía de Loreto. La estimación estadística de estas tasas de crecimiento indicó sin lugar a duda que, para el periodo evaluado en este estudio, los triploides presentaron una mayor tasa de crecimiento en músculo (61%) y en biomasa (73%) que los diploides. Sin embargo, debido a que las tasas de crecimiento de la altura de la concha y del peso total no mostraron diferencias significativas entre diploides y triploides, puede inferirse que la diferencia observada en las tasas de crecimiento muscular y de biomasa fueron principalmente causadas por el efecto que tuvo la maduración gonádica y el desove en los organismos diploides al final del cultivo en agosto de 2009 (476 días). Esto fue confirmado al estimar *a posteriori* las tasas de crecimiento en biomasa y músculo durante el primer año, a los 351 días de cultivo, y en donde no se encontraron diferencias estadísticas entre estas variables para diploides y triploides (Tabla 6), aunque sí se observan mayores valores de las tasas obtenidas, considerando solamente un año en todos los casos.

Tabla 6. Tasas de crecimiento con sus intervalos de confianza (IC) en biomasa y músculo considerando únicamente el primer año, o hasta los 351 días de cultivo.

	Tasa de crecimiento en Biomasa (351 d)			Tasa de crecimiento en Músculo Aductor (351 d)		
	IC MIN	MEDIA	IC MAX	IC MIN	MEDIA	IC MAX
Diploides	0.0225	0.0360	0.0495	0.0065	0.0194	0.0323
Triploides	0.0309	0.0476	0.064	0.0094	0.0299	0.0505

8.2.2. Comparación con otros estudios efectuados en *N. subnodosus*

Por otro lado, y con el fin de comparar las tasas de crecimiento en altura de la concha reportadas en otros estudios para esta misma especie, evaluada en diferentes sitios de Baja California Sur, se estimó *a posteriori* la tasa de crecimiento en altura de concha durante el primer año (351 días de cultivo) tanto para los diploides ($0.113 \text{ mm día}^{-1}$, con un intervalo de confianza de 0.094 hasta 0.133), como para los triploides ($0.121 \text{ mm día}^{-1}$, IC de 0.106 hasta 0.136). Estas tasas de crecimiento en altura de concha de ambas ploidias son más bajas que las reportadas por otros autores (García-Domínguez et al., 1992; Barrios et al., 1997; Racotta et al., 2003; Villalejo-Fuerte et al., 2004), las cuales varían de 0.13 a 0.25 mm día^{-1} . Sin embargo, las tasas de crecimiento estimadas por la mayoría de estos autores han sido obtenidas por métodos aritméticos y no estadísticos. Por lo que para fines comparativos, se estimaron adicionalmente los valores aritméticos del presente estudio, considerando solamente un año (Tabla 7). De lo anterior, es interesante observar cómo al utilizar una estimación aritmética y tomando como cero la talla al inicio del cultivo, las tasas de crecimiento en altura de la concha en el presente estudio aumentaron (0.17 mm día^{-1} en los diploides y 0.19 mm día^{-1} en los triploides). Resultados similares en cuanto a la variación en la tasa estimada por uno u otro método pueden observarse en el trabajo de Barrios-Ruiz et al. (2003) quienes mediante regresión lineal encontraron una tasa de crecimiento en altura de concha de $0.109 \text{ mm día}^{-1}$. Sin embargo, una reestimación de la tasa por el método aritmético resulta en un mayor valor en la tasa (0.14 mm día^{-1}) (Tabla 7). Esto indica que existe poca validez en comparaciones de tasas de crecimiento de la concha, ya que el crecimiento depende de varios factores como son diferencias en tiempos de siembra, localidades, origen de la semilla, el tipo de cultivo, los registros del inicio del crecimiento y el método utilizado para evaluar estas tasas. Adicionalmente, en el caso de pectinídeos, es importante conocer si la semilla es silvestre o producida en laboratorios, ya que el método comúnmente utilizado para la producción de la semilla en laboratorios no busca evitar la producción de semilla endogámica a consecuencia de la autofecundación en esta especie hermafrodita funcional (Petersen et al., 2008).

Tabla 7. Crecimiento en altura de la concha y tasas diarias estimadas aritméticamente, en la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*, cultivada en diferentes sitios de Baja California Sur, México.

CRECIMIENTO		ÁREA DE ESTUDIO	ORIGEN DE SEMILLA	REFERENCIA
mm en días	mm día ⁻¹			
76 en 365	0.21	laguna Ojo de Liebre (Costa Pacífico)	laguna Ojo de Liebre (Silvestre)	García-Domínguez et al. 1992
92 en 365	0.25	Bahía Magdalena (Costa Pacífico)	laguna Ojo de Liebre (Laboratorio)	Racotta et al. 2003
52 en 365	0.14	Bahía de La Paz (Golfo de California)	laguna Ojo de Liebre (Laboratorio)	Barrios-Ruiz et al. 2003
47 en 335	0.14	Bahía Juncalito Parque Nacional Bahía de Loreto (Golfo de California)	Bahía de Loreto (Laboratorio)	Villalejo-Fuerte et al. 2004
61 en 351	0.17	Puerto Escondido Parque Nacional Bahía de Loreto (Golfo de California)	Bahía de Loreto (Laboratorio)	Este estudio

Los valores de crecimiento en mm y los días a los que corresponden fueron obtenidos directamente de tablas cuando estas se presentan, o de gráficas presentadas por los diferentes autores.

Por lo anterior, es conveniente comparar las tasas reportadas para semillas crecidas en sitios similares al utilizado en el presente trabajo, específicamente sitios en el Golfo de California, por separado de las tasas de crecimiento reportadas para sitios en las costas del Pacífico de la península de Baja California, así como también tomando en cuenta el origen de la semilla (o de los reproductores que la produjeron).

Las tasas de crecimiento aritméticas obtenidas en el presente trabajo fueron mayores a las reportadas por Villalejo-Fuerte et al. (2004), quienes al igual que en este trabajo, utilizaron semillas producidas en laboratorio, con reproductores de Bahía de Loreto, y cultivadas en un sitio muy cercano a donde se realizó este estudio. Sus resultados fueron similares a los reportados por Barrios-Ruiz et al. (2003) en Bahía de La Paz, en donde se utilizaron semillas de laboratorio producidas con

reproductores provenientes de la laguna Ojo de Liebre. Las diferencias en las tasas de crecimiento entre el estudio de Villalejo-Fuerte et al. (2004) y las estimadas en el presente trabajo pueden tener diferentes causas, entre ellas las condiciones ambientales presentes en los años de evaluación de cada estudio, el grado de endogamia en la semilla, y otros no identificados. Respecto al grado de endogamia, es importante señalar que la posibilidad existe cuando ésta es producida 'en masa' en laboratorios. Esto es, recientemente Petersen et al. (aceptado) encontraron a través de un análisis con marcadores moleculares tipo microsatélite y mitocondriales, que la semilla obtenida en desoves inducidos en masa en condiciones de laboratorio, y cultivada posteriormente en la laguna Guerrero Negro por productores comerciales, se derivaba de un desove autofecundado, con el grado de endogamia máximo posible ($F=0.5$) de alcanzar en una primera generación. Adicionalmente a la posibilidad de que la semilla tuviese un alto grado de endogamia, es posible adscribir parcialmente la causa para las diferencias en crecimiento a factores ambientales como temperatura y productividad. En la tabla 8 se pueden observar los valores de la temperatura y clorofila-*a* mínimas y máximas para el año 1999, cuando el estudio de Villalejo-Fuerte et al. (2004) inició, y para el cual se estimaron las tasas de crecimiento. La temperatura mínima en 1999 para Bahía de Loreto fue 18.9°C y la máxima fue de 30.3°C; así mismo, la concentración de clorofila-*a* fue 0.3 mg m⁻³ hasta un máximo de 2.0 mg m⁻³. Durante el presente estudio, la mínima y máxima temperatura registradas de abril del 2008 a marzo de 2009, primer año de cultivo, fueron de 20.1°C y 29.8°C respectivamente, y el rango de clorofila-*a* fue de 0.37 mg m⁻³ hasta 2.84 mg m⁻³. Esto indica ciertas diferencias en las condiciones ambientales, especialmente en cuanto a la disponibilidad de alimento, que fue ligeramente mayor en el presente estudio.

Tabla 8. Valores mínimos y máximos de temperaturas superficiales y concentraciones de clorofila-a (mg m^{-3}), registrados mediante imágenes de satélite, de 1998 al 2007 en Bahía Magdalena y laguna Ojo de Liebre en las costas del Pacífico, y Bahía de La Paz y Bahía de Loreto en las costas del Golfo de California.

AÑO	Pacífico				Golfo de California			
	Bahía Magdalena		laguna Ojo de Liebre		Bahía de La Paz		Bahía de Loreto	
	T° C	Cl-a	T° C	Cl-a	T° C	Cl-a	T° C	Cl-a
1998	19.5 - 27.2	1.5 - 4.3	16.4 - 23.5	0.75 - 3.3	22.2 - 30.3	0.16 - 1.1	20.9 - 30.5	0.18 - 1.2
1999	16.9 - 24	1.7 - 5.6	14.9 - 20.5	0.74 - 2.5	20.1 - 29.5	0.23 - 1.4	18.9 - 30.3	0.3 - 2
2000	16 - 26.6	3 - 8.5	15.7 - 23.1	1.3 - 3	20.6 - 29.6	0.42 - 4.9	19.2 - 30.8	0.43 - 2.4
2001	13.1 - 26	2 - 10	14.4 - 20.3	0.94 - 2.9	16 - 29.7	0.27 - 4.1	14.1 - 30.3	0.26 - 6.2
2002	11.9 - 25.5	2.5 - 8.1	13.4 - 21	1.2 - 4.8	17.3 - 28.9	0.25 - 1.8	17.8 - 30	0.32 - 2.2
2003	14.2 - 26.6	2.7 - 6.2	12.5 - 20.1	1.8 - 4.7	20.2 - 29	0.26 - 2	20.4 - 30.4	0.28 - 2.1
2004	11.3 - 26.2	2 - 6.6	12.7 - 19.8	1 - 3.6	19.4 - 29.4	0.27 - 1.7	18.4 - 29.9	0.28 - 3.8
2005	15.4 - 26.6	3.1 - 5.1	16.5 - 22	1.3 - 2.9	20.9 - 30.1	0.22 - 1.9	20.6 - 30.8	0.24 - 2.9
2006	14 - 27	2.5 - 16.5	15.5 - 22.7	1.2 - 4	19.8 - 29.6	0.24 - 1.7	18.5 - 30.4	0.24 - 2.1
2007	18.1 - 27.5	3 - 8.9	15.9 - 22	0.94 - 3.6	20.1 - 29.4	0.32 - 2.1	19.3 - 30.4	0.6 - 3.8
PROMEDIOS	21.03	4.2	18.08	2.34	24.6	0.89	24.5	1.15
<i>Mínimos</i>	11.3	1.5	12.5	0.74	16	0.16	14.1	0.18
<i>Máximos</i>	27.2	16.5	26.2	4.89	30.3	4.9	31.3	6.2

Datos obtenidos de la 'Base de Datos del Proyecto SEMARNAT-2002-C01-0278', elaborada por Pacheco-Ayub y Herrera-Cervantes (2008).

Por otro lado, no es sorprendente el encontrar en el presente estudio tasas de crecimiento mayores en relación a las reportadas por Barrios-Ruiz et al. (2003), ya que sus semillas fueron transferidas del Pacífico al Golfo de California, por lo que se esperaría que el bajo desempeño de estas estuviera, asociado a la falta de adaptaciones requeridas en un medio ambiente estresante como lo es la Bahía de La Paz, un sitio donde se presentan mucho mayores temperaturas promedio que las de la laguna Ojo de Liebre, y así como la menor productividad primaria promedio de todos los sitios, incluyendo Bahía de Loreto (Tabla 8).

A la fecha, además del estudio de Barrios-Ruiz et al. (2003) no existen otros estudios publicados en relación al desempeño obtenido de *N. subnodosus* al utilizar semillas transferidas del Pacífico al Golfo de California. Sin embargo, existe información registrada por la Sociedad Cooperativa Mujeres del Golfo, quienes utilizaron en un cultivo en Bahía de Loreto, semillas producidas en laboratorio de reproductores provenientes de la laguna Ojo de Liebre. Esta sociedad reportó un peso promedio de músculo de 8.4 g, ó con una tasa aritmética de crecimiento muscular estimada de $0.0093 \text{ g día}^{-1}$ después de un período de cultivo de 30 meses (900 días). Lo anterior contrasta con la tasa aritmética de crecimiento en músculo obtenida en el presente estudio hasta los 476d de cultivo, la cual se estimó *a posteriori* en $0.0147 \text{ g día}^{-1}$, lo que representa cerca de un 50% más. Esta disparidad en crecimiento de semillas introducidas vs. nativas coincide con lo reportado por Cruz et al. (1998) para *Argopecten ventricosus* (pectínido nativo de la península de Baja California) al evaluar semillas de Bahía Magdalena (costas del Pacífico) transferidas a Bahía Concepción (Golfo de California), quienes además encontraron una menor supervivencia de las semillas transferidas. Por otro lado, cuando se transfirió a la población de Bahía Concepción a Bahía Magdalena no hubo diferencias en supervivencia, y el crecimiento tanto de la población de Bahía Concepción como de la de la Bahía Magdalena superó en casi el doble de biomasa y peso total, el alcanzado por ambas poblaciones cuando se evaluaron en Bahía Concepción. Sin embargo, cabe destacar que la población Concepción no fue superior a la población Magdalena en ningún carácter de crecimiento evaluado, por lo que el traslado de la población de Concepción a Bahía Magdalena no trae ventaja alguna.

Adicionalmente al trabajo de Cruz et al. (1998), son pocos los estudios que han evaluado, en paralelo a una misma población o grupo genético en condiciones ambientales contrastantes como las presentes entre el Golfo de California y el Pacífico. Entre ellos está el de Ascencio-Michel (2008), quien evaluó el rendimiento del ostión *Crassostrea gigas* cuando este es cultivado en paralelo en costas del Golfo de California y del Pacífico, este autor encontró un efecto altamente significativo de las condiciones ambientales (temperatura y productividad) sobre el rendimiento del ostión. Esto es, el crecimiento alcanzado en las costas del Golfo de California fue menor al 50% del alcanzado en el Pacífico. En el caso de la almeja *Nodipecten subnodosus*, aunque no se han realizado estudios en paralelo entre costas de la península de Baja California, el comportamiento en cuanto a crecimiento altamente contrastante entre costas es característico de los pectinídeos evaluados, como se discutirá en la siguiente sección.

En los estudios de crecimiento de *N. subnodosus* que se han realizado en una u otra costa de la península de Baja California, se ha observado que las tasas aritméticas de crecimiento de esta especie cuando es cultivada en las costas del Pacífico son mucho mayores (0.21 mm día^{-1} a 0.25 mm día^{-1}) que las reportadas (0.14 a 0.17 mm día^{-1}) en las costas del Golfo de California (Tabla 7), lo cual puede ser explicado debido a la mayor productividad y menores temperaturas que se presentan en las costas del Pacífico (Tabla 8), como fue demostrado antes para el ostión (Ascencio-Michell 2008), y más recientemente observado por Arellano-Martínez (com. personal). Se sabe que la cantidad de alimento disponible en el medio es el principal factor que regula el crecimiento y la producción de los moluscos, incluyendo a los pectinídeos (Thompson & MacDonald, 2006). En el caso de la almeja *N. subnodosus*, esto es demostrado al realizar una comparación de la producción en músculo alcanzada entre sitios con diferentes condiciones ambientales. Por ejemplo, en un cultivo en Bahía Magdalena (sitio de bajas temperaturas y alta concentración de alimento) se reportó un crecimiento de músculo de 55 g (pre-desove) en un período de 18 meses (3.05 g mes^{-1}) (Racotta et al., 2003), así como de cultivo en Bahía Magdalena, y Maldonado-Amparo et al. (2004) para el mismo sitio registran un crecimiento máximo de aproximadamente 38 g antes del desove en un periodo de 17

meses (2.24 g mes^{-1}) o 29 g post-desove en un periodo de 21 meses (1.38 g mes^{-1}) (Maldonado-Amparo et al., 2004). Por otro lado, Osuna-García (2006), reportó un crecimiento de músculo de 40.7 g en un periodo de 22 meses (1.85 g mes^{-1}) en la laguna Ojo de Liebre, un sitio también con bajas temperaturas pero menores concentración de alimento que Bahía Magdalena, aunque también considerado un Centro de Actividad Biológica (Lluch-Belda et al., 2000). Lo anterior es altamente contrastante con lo encontrado en este estudio en Bahía de Loreto durante un periodo de 16 meses, en donde los organismos diploides alcanzaron un peso de músculo de 8 g predesove (0.53 g mes^{-1}) y 7 g postdesove (0.44 g mes^{-1}), lo cual puede ser adscrito directamente a las altas temperaturas y la menor cantidad de alimento disponible en este sitio. Por otro lado, la diferencia encontrada entre lo reportado en Bahía Magdalena por Racotta et al. (2003) realizado de 1999 ha 2000, y el de Maldonado-Amparo et al. (2004) realizado del 2001 a 2002, fue la diferencia de temperatura interanual (ver tabla 8). Esta conclusión se deriva de lo encontrado por González-Estrada (2003) en cuanto a la temperatura óptima de crecimiento bajo condiciones de laboratorio de juveniles de *N. subnodosus* de la laguna Ojo de Liebre (origen de la semilla en ambos estudios) habiendo sido de 22° C , por lo que la temperatura observada (21.3° C en promedio) durante el 2000 se aproxima más a la temperatura óptima que la observada en el 2002 (18.7° C).

8.3. Supervivencia

En este estudio se observó una alta supervivencia promedio mensual en ambas ploidias (97%), tal como lo reportó Maldonado-Amparo et al. (2004) para esta misma especie en Bahía Magdalena. La supervivencia al final del estudio también fue alta tanto para diploides (72%) como para triploides (70%). Este resultado contrasta con lo observado por Barrios-Ruiz et al. (2003) en Bahía de La Paz (44%), y por Villalejo-Fuerte et al. (2004) en Bahía de Loreto (40%). La alta supervivencia observada en el presente estudio, irrespectivo de la condición de ploidía, puede ser explicada parcialmente por el hecho de haber utilizado reproductores silvestres de Bahía de Loreto para la producción de los grupos experimentales, así como un sistema de

desove controlado para la obtención de ovocitos y esperma por separado, para evitar la autofecundación. En este sentido, la utilización de reproductores nativos garantiza que los descendientes estén adaptados a las condiciones ambientales en este sitio, como ha sido demostrado para la almeja catarina, *Argopecten ventricosus* (Cruz et al., 1998). No existen otros estudios publicados sobre supervivencia de la almeja mano de león *N. subnodosus* cuando se utilizan semillas producidas con reproductores de la laguna Ojo de Liebre para ser cultivados en sitios dentro del Golfo de California. Sin embargo, sí existe documentación del sector productivo social que demuestra la importancia de considerar el origen de la semilla para la realización de los cultivos. Por ejemplo, en Bahía de Loreto se han encontrado supervivencias del 40% durante un periodo de cultivo de 30 meses para semillas producidas con reproductores de la laguna Ojo de Liebre (Martha Apoloni, com. personal). Como se mencionó en párrafos anteriores, estas bajas supervivencias pueden ser resultado de falta de adaptación a altas temperaturas, cuando se usan reproductores de origen de ambientes muy diferentes. Lo anterior es apoyado por el hecho de que estudios recientes han demostrado que las poblaciones del Golfo de California difieren genéticamente de la población de la laguna de Ojo de Liebre (Petersen et al., 2008a).

Por otro lado, aunque en el presente estudio no hubo diferencias en supervivencia entre ploidías, sí se observó una menor supervivencia para ambas ploidías entre las edades de 84 a 186 días de cultivo (entre junio y septiembre de 2008), la cual fue significativamente diferente respecto al resto de los intervalos de tiempo de cultivo. En este sentido, se ha demostrado que en juveniles de algunos pectínidos (*Argopecten irradians irradians*, *A. circularis*, *A. purpuratus*, *Chlamys opercularis*) (MacDonald et al., 2006), del mejillón *Mytilus edulis* (Hamburger et al., 1983), así como del cangrejo *Callinectes sapidus*, existe un mayor consumo de oxígeno que en los de mayor talla, y en, donde se ha concluido que los juveniles son mas susceptibles a las condiciones adversas del ambiente (Tankersley & Wieber, 2000).

Además de lo anterior, la baja supervivencia en este periodo pudo ser consecuencia también de un incremento en la tasa metabólica en respuesta al incremento de la

temperatura ocurrido ese primer verano. El metabolismo de los bivalvos tiene costos asociados con el mantenimiento de funciones corporales o metabolismo basal, costos mecánicos de alimentación, y costos fisiológicos de procesos de digestión y absorción, así como los de crecimiento (Hawkins & Bayne, 1992). Se sabe que en respuesta a incrementos en temperatura, los moluscos, incluidos los pectinídeos, incrementan sus tasas metabólicas y por ende su consumo de oxígeno (MacDonald et al., 2006). Sin embargo, un posible incremento en el gasto metabólico, por ejemplo asociado con tasas de filtración o aclaramiento, no estuvo pareado con un incremento en alimento disponible, como es observado en latitudes frías, donde la disponibilidad de alimento se considera el factor principal que afecta el crecimiento (MacDonald & Thompson, 1985). En latitudes tropicales como es Bahía de Loreto, el incremento en temperaturas que ocurre en el verano (arriba de 25°C), va directamente asociado con un decremento en la productividad primaria, lo cual trae como consecuencia un balance fisiológico o metabólico negativo en los organismos (Pilditch y Grant, 1999), que a su vez resulta en un reducido crecimiento y en una baja supervivencia si el alimento disponible no es suficiente para mantener el metabolismo basal (Bayne y Newell, 1983). De hecho, en este estudio se hizo evidente un reducido crecimiento en biomasa a los 137 días de cultivo, independientemente de la ploidía (ver Fig. 23). Aunque justo en el periodo siguiente (186 días) el crecimiento en biomasa se incrementó nuevamente, pero esto ocurrió en mayor grado en los triploides, lo cual puede ser explicado por una respuesta de aclimatación a la temperatura. La aclimatación compensatoria de las tasas metabólicas se considera una adaptación fisiológica importante en mantener el crecimiento en ambientes inestables en términos de temperatura (Weiser, 1973 y Newell, 1979, citados por Pilditch & Grant 1999), sin embargo, cuando tal aclimatación ocurre en condiciones de baja disponibilidad de alimento, esto puede resultar en la baja supervivencia observada. Aunque en las edades de 406 y 476 días de cultivo, que corresponden al segundo verano durante este estudio, se observó la misma tendencia del inicio en el aumento de temperaturas y una baja en la concentración de clorofila-a, ésta no resultó en un decremento en el porcentaje de supervivencia para ninguna de las ploidías, sin embargo sí se reflejó en una pérdida

de biomasa, tanto en diploides como en triploides, lo que indica un balance fisiológico negativo.

8.4. Desarrollo gonádico en diploides y grado de esterilidad en triploides

Los resultados mostraron que cerca del 50% de los organismos diploides alcanzaron la primera madurez sexual en el día 406 de cultivo (junio del 2009), cuando estos alcanzaron una talla promedio de 6.6 cm de altura de la concha, la cual fue evidenciada por la presencia de estadios de desarrollo avanzado y de madurez. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Villalejo-Fuerte et al. (2004) para la misma especie (junio-julio, 6.8 a 7.2 cm de longitud de concha). El periodo y talla de desarrollo gonádico observado en este estudio coincidió con un aumento de la temperatura del agua, lo cual concuerda con el hecho de que la temperatura es uno de los principales factores que regulan la gametogénesis y el ciclo reproductivo de los bivalvos marinos (Sastry & Blake, 1971; Sastry, 1979; Barber & Blake, 1983; Barber & Blake, 1991, citados por Barber & Blake, 2006). Por otra parte, adicionalmente a los factores exógenos como la temperatura, también existen factores endógenos (neuronal y hormonal), cuya expresión está asociada con la talla de primera madurez de los organismos (ver Barber & Blake, 2006). La regulación de la gametogénesis por factores endógenos explica por qué en este estudio los organismos no iniciaron su gametogénesis en julio del 2008, sino hasta junio del 2009, aunque fueron las mismas condiciones ambientales.

En contraste, el análisis histológico mostró que los organismos triploides se mantuvieron en el estadio de indiferenciado (con acinos con células germinales no diferenciadas) durante todo el ciclo de cultivo, evidenciando una esterilidad total. Estos resultados concuerdan parcialmente con lo observado para esta misma especie por Maldonado-Amparo et al. (2004), con la única diferencia que en ese estudio el arresto de la primera gametogénesis ocurrió en el estadio de ovocito previtelogénico o en el de espermatocito.

En otros estudios con pectínidos triploides se ha observado que la gametogénesis-maduración en triploides con esterilidad parcial presenta un retraso temporal en comparación con los diploides (Ruiz-Verdugo et al., 2000; Maldonado-Amparo & Ibarra, 2001a; 2001b), lo cual podría explicar el no encontrar un desarrollo similar en triploides cultivados en Bahía de Loreto por un periodo menor al requerido para alcanzar la madurez sexual en talla adulta. Esto es, se desconoce si triploides de *N. subnodosus* cultivados en Bahía de Loreto podrían alcanzar una esterilidad similar a la encontrada en Bahía Magdalena (95%) por Maldonado-Amparo et al. (2004) a una edad aproximada de dos años.

8.5. Triploidía como una alternativa para el cultivo de *Nodipecten subnodosus* en el Parque Nacional Bahía de Loreto

En este estudio quedó demostrado que el uso de organismos triploides de esta especie sí provee una alternativa para su utilización en la producción acuícola en este sitio. Esto se debe a que: 1) los organismos triploides sí presentan una ventaja en producción al presentar una ganancia en peso del músculo aductor del 76% mayor respecto a los diploides y 2) debido a la esterilidad mostrada de los organismos triploides en comparación con la primera madurez sexual de los diploides. Aunque no se evaluó hasta la segunda madurez gonádica, se espera que sea similar a la reportada (95%) por Maldonado-Amparo et al. (2004).

La esterilidad observada en los triploides indica que el impacto potencial negativo por introgresión génica de los organismos introducidos al cultivo sería reducido considerablemente, en comparación con el impacto potencial que presentan los diploides. Se esperaría que tal introgresión génica por parte de los diploides resultara en una pérdida importante de la variabilidad genética en la población silvestre de Bahía de Loreto, debido a que la semilla producida en laboratorio se deriva de pocos reproductores y tiene una variabilidad genética menor que las poblaciones silvestres como ha sido demostrado para esta especie (Petersen et al., 2008b; 2008c), así como para otras especies de importancia comercial de uso en

acuicultura (Gaffney et al., 1992; Smith & Conroy, 1992; Blake et al., 1997; Norris et al., 1999; Ward et al., 2003; Evans et al., 2004; Li et al., 2004).

Aunque los resultados de crecimiento y esterilidad en triploides de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* obtenidos en este trabajo son alentadores para proponer el uso exclusivo de triploides para cultivo en el Parque Nacional Bahía de Loreto, tal propuesta no puede ser aun realizada, debido a que la producción de organismos triploides por métodos químicos, como el utilizado en este estudio, presenta desventajas como lo es la baja supervivencia larvaria de embrión hasta el primer estadio larvario (larva velígera inicial) asociada a la toxicidad del químico empleado (citocalacina-B : CB), la cual respecto al grupo control no tratado en este estudio fue del 50% (Tabla 9).

Estos resultados coinciden con lo reportado en otros estudios donde se ha encontrado una mayor mortalidad en éste estadio larvario por efecto del tratamiento químico con CB en *N. subnodosus* (Maldonado-Amparo et al., 2004) y otros pectínidos de importancia comercial (Baron et al., 1988; Ruiz-Verdugo et al., 2000; Cogswell et al., 2006). Aunado a lo anterior, existe otro efecto de la inducción a la triploidía por métodos químicos: el decremento en el porcentaje de triploides a lo largo de los primeros estadios de desarrollo (larva hasta semilla). El éxito en la obtención de semilla con alto porcentaje de triploidía y supervivencia cuando se utiliza el químico CB ha sido reportado como dependiente de la especie (Beaumont & Fairbrother 1991), lo cual se confirma al comparar los estudios de inducción de la almeja *A. ventricosus* (Ruiz-Verdugo et al., 2000), de la almeja *N. subnodosus* (Maldonado-Amparo et al., 2004) y en el presente estudio. En éste trabajo se observó una reducción en el porcentaje de triploidía a partir de larva pedivelígera (80% de triploidía) hasta semilla (30% de triploidía). Debido a que en los triploides se registró una mayor mortalidad (50% mayor) que en los diploides entre estos estadios de desarrollo, la causa del decremento en porcentaje de triploides pudo ser debido a una mortalidad diferencial entre ploidías (Tabla 8). Una mortalidad significativamente mayor de larva velígera a semilla en triploides ha sido reportada en *A. ventricosus*

(Ruiz-Verdugo et al., 2000) y *N. subnodosus*, lo cual ha sido asociada con un decremento en el porcentaje de triploidía (Maldonado-Amparo et al., 2004).

Tabla 9. Porcentajes de triploidía y supervivencia obtenida de larva-D hasta la última evaluación en el presente estudio.

ETAPA DE EVALUACIÓN	% TRIPLOIDÍA ENCONTRADA EN CADA EVALUACIÓN	% SUPERVIVENCIA RESPECTO AL GRUPO CONTROL
LARVA		
Larva D	80%	50%
Larva Fijadora (pedivelígera)	80%	100%
SEMILLA - PREENGORDA		
Semilla inicio de preengorda	30%	50%
Semilla final de preengorda (edad 0)	30%	76%
ENGORDA		
36 días de cultivo	26.6%	76%
84 días de cultivo	33.3%	76%
137 días de cultivo	26.6%	76%
186 días de cultivo	31.6%	76%
231 días de cultivo	30%	76%
282 días de cultivo	30%	76%
351 días de cultivo	23.3%	76%
406 días de cultivo	26.6%	76%
476 días de cultivo	27.3%	76%

Los problemas que representaría el no obtener semilla con un 100% de triploidía para uso comercial de esta especie en el Parque Nacional Bahía de Loreto serían por una parte, que la ventaja productiva de los triploides se vería disminuida por los organismos siendo diploides dentro del grupo, y por otra parte un posible impacto genético sobre la población silvestre debido a la maduración gonádica y desove de los diploides, que podría resultar en una introgresión con la población silvestre. Independientemente de lo anterior, es importante mencionar que el cultivo de triploides mezclados con diploides es sin lugar a dudas una mejor alternativa que el cultivo sólo de diploides, y es aun mejor que el cultivo de diploides transferidos de la población del Pacífico.

La producción de moluscos triploides puede realizarse con un método alternativo, que es el de apareamiento entre individuos tetraploides y diploides (Guo et al., 1996), produciendo lo que se conoce como 'triploide biológico', como es el caso del ostión japonés *Crassostrea gigas*, para el cual ya se producen triploides con un éxito del 100% así como con mayores supervivencias larvarias (Eudeline et al., 2000). Aunque esta parecería ser una solución al problema de no obtener un 100% de triploides cuando se utiliza el método químico, la obtención de organismos tetraploides de almeja *N. subnodosus* presenta un problema, ya que el método de producción de tetraploides requiere de la obtención de ovocitos de hembras triploides no totalmente estériles, los cuales son fecundados con espermatozoides de organismos diploides, para luego inhibir la extrusión del primer cuerpo polar mediante el uso de citocalacina-B para retener cuatro juegos cromosómicos en el cigoto (Guo & Allen, 1994; Eudeline & Allen, 2000). Dado que se ha determinado que los triploides de esta especie presentan una esterilidad prácticamente total (Maldonado-Amparo et al. 2004, y el presente trabajo), la obtención de ovocitos triploides es prácticamente imposible, por lo que se requiere de futuras investigaciones con el objetivo de lograr la producción de tetraploides directamente a partir de organismos diploides.

Finalmente, debido a que los moluscos tetraploides como el ostión japonés y la almeja catarina *A. ventricosus* son fértiles (Guo et al., 1996; Guo & Allen, 1997; AM Ibarra, datos no publicados) a diferencia de los triploides, es importante resaltar que

de lograrse la producción de los mismos, estos deberán ser mantenidos en condiciones controladas, fuera de cualquier sistema costero donde se encuentren poblaciones silvestres de esta especie para evitar cualquier entrecruzamiento entre ellos. Tal entrecruzamiento resultaría en la generación de triploides, lo que ocasionaría una reducción en la capacidad reproductiva de la población nativa por la presencia de organismos triploides y estériles.

9. CONCLUSIONES

1. Los organismos triploides de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* sí presentan una ventaja en crecimiento sobre los organismos diploides cuando son cultivados en el Parque Nacional Bahía de Loreto.
2. Los organismos triploides presentaron una esterilidad total hasta la edad evaluada.
3. No se observó una diferencia en supervivencia entre ambas ploidías pero sí un efecto de las condiciones ambientales en la supervivencia de tallas pequeñas en ambas ploidías.
4. La ventaja en crecimiento de los triploides está asociada no solo con la esterilidad en los mismos, sino también con las condiciones ambientales presentes en los meses de verano en Bahía de Loreto, como son altas temperaturas y baja disponibilidad de alimento.
5. El uso de organismos triploides de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* permitirá realizar cultivos de alto rendimiento y bajo impacto genético por la esterilidad total presentada en el Parque Nacional Bahía de Loreto cuando se solventa el problema de obtener un 100% de triploidía.

10. RECOMENDACIONES

1. Evitar la introducción de organismos de cultivo producidos con reproductores obtenidos de sitios diferentes (y posiblemente con adaptaciones diferentes).
2. Es recomendable que los estudios realizados a futuro en cuanto a crecimiento y supervivencia de esta y otras especies de moluscos, indiquen el origen de la semilla utilizada, y estandaricen la estimación de tasas de crecimiento con fines de realizar comparaciones e inferencias de diferentes trabajos.
3. Es necesario optimizar la biotecnología para la producción de triploides de esta especie, de tal manera que se alcance un 100% de triploidía inicial, y esta sea mantenida durante el crecimiento o engorda en campo.
4. Realizar la evaluación de organismos triploides en una segunda madurez sexual con fines de establecer si la esterilidad del 100% es mantenida en organismos de mayor edad-talla que las evaluadas en el presente trabajo.
5. Llevar a cabo estudios asociados a la movilización de reservas energéticas así como de tasas fisiológicas tanto en diploides como triploides cuando son sometidos a diferentes temperaturas y condiciones de alimentación, pero dentro de los rangos observados en la distribución de las poblaciones de esta especie con el fin de que sean demostrativos de condiciones ambientales reales.
6. Realizar estudios encaminados a la producción de organismos tetraploides, a partir de gametos diploides, debido a la alta esterilidad observada en los triploides de esta especie en particular.

10. BIBLIOGRAFIA

- Acosta, C.P. & G. Román. 1995. Reproductive and reserve storage cycles in *Pecten maximus* reared in suspension. II: Energy storage cycle. In 8th International Pectinid Workshop, Cherbourg (France).
- Allen Jr., S.K. & S.L. Downing. 1986. Performance of triploid pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg): I. Survival, growth, glycogen content and sexual maturation in yearlings. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 102: 197-208.
- Allen Jr., S.K. & S.L. Downing. 1990. Performance of triploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg): gametogenesis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 47: 1213-1222.
- Allen Jr., S.K. 1983. Flow cytometry: assaying experimental polyploid fish and shellfish. Aquaculture 33: 317-328.
- Allen Jr., S.K. 1987. Gametogenesis in three species of triploid shellfish: *Mya arenaria*, *Crassostrea gigas* and *Crassostrea virginica*. Proc. World Symposium on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture of Fish and Shellfish for Consumption and Stocking. Bordeaux, 27-30 may, Vol. II, Berlin, pp. 207-217.
- Allen Jr., S.K., H. Hidu & J.G. Stanley. 1986. Abnormal gametogenesis and sex ratio in triploid soft-shell clams *Mya arenaria*. Biol. Bull. 170: 198-210.
- Ansell, A.D. 1974. Seasonal changes in biochemical composition of the bivalve *Chlamys septemradiata* from the Clyde Sea Area. Mar. Biol. 26: 85-99.
- Arellano-Martínez, M., B.P. Ceballos-Vázquez, M. Villalejo-Fuerte, F. García-Domínguez, J.F. Elorduy-Garay, A. Esliman-Salgado & I.S. Racotta. 2004a. Reproduction of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835 (Bivalvia: Pectinidae) from Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., Mexico. J. Shellfish Res. 23 (3): 723-729.
- Arellano-Martínez, M., I.S. Racotta, B.P. Ceballos-Vázquez & J.F. Elorduy-Garay. 2004b. Biochemical composition, reproductive activity and food availability of the

- lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* in the Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, Mexico. *J. Shellfish Res.* 23 (1): 15-23.
- Ascencio-Michel, R. 2008. Análisis comparativo del crecimiento y supervivencia del ostión *Crassostrea gigas* diploide y triploide en diferentes medios ambientes del Noroeste Mexicano. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 80 p.
- Barber, B.J. & N.J. Blake. 1981. Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 52: 121-134.
- Barber, B.J. & N.J. Blake. 1983. Growth and reproduction of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck) at its southern distributional limit. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 66: 247-256.
- Barber, B.J. & N.J. Blake. 2006. Reproductive Physiology. pp. 357-406. En: Shumway, S. E. (Ed.) *Scallops: Biology and Aquaculture*. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Amsterdam: Elsevier.
- Baron, J., A. Diter & A. Bodoy. 1989. Triploidy induction in the Black scallop *Chlamys varia* L. and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture* 77: 103-111.
- Barrios-Ruiz, D., J. Chávez-Villalba & C. Cáceres-Martínez. 2003. Growth of *Nodipecten subnodosus* (Bivalvia:Pectinidae) in La Paz Bay, México. *Aquaculture Res.* 34: 633-639.
- Bayne, B.L. & J. Widdows. 1978. The physiological ecology of two populations of *Mytilus edulis*. *L. Oecologia.* 37: 137-162.
- Bayne, B.L. & R.C. Newell. 1983. Physiological energetics of marine molluscs. En: Wilbur KM, A.S. Saleuddin (Eds.) *The Mollusca*. Vol. 4. Academic Press, New York.
- Beaumont, A.R. & J.E. Fairbrother. 1991. Ploidy manipulation in mollusca shellfish; a review. *J. Shellfish Res.* 10(1): 1-18.
- Blake, S.G., N.J. Blake, M.J. Oesterling & J.E. Graves. 1997. Genetic divergence and loss of diversity in two cultured populations of the bay scallop *Argopecten irradians* (Lamarck, 1819). *J Shellfish Res.* 16: 55-58.

- Cáceres-Martínez, C., C.A. Ruiz-Verdugo & C. Rodríguez-Jaramillo. 1990. Variación estacional del índice gonádico y muscular de *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) en la Ensenada de La Paz, B.C.S., México. Investigaciones Marinas, CICIMAR 5 : 1-16.
- Chavez-Villalba, J., M. López-Tapia, J. Mazon-Suastegui & M. Robles-Mungaray. 2005. Growth of the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) in Sonora, México. Aquaculture Res. 36 (14): 1337-1344.
- Cogswell, A.T., E.L. Kenchington, S.E. Roach & B.W. MacDonald. 2006. Bay scallops (*Argopecten irradians*): induction methodology, development and growth. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 2635: 48 p.
- CONAP-SEMARNAP, 2000. Programa de Manejo del Parque Nacional Bahía de Loreto. 185 p.
- Cruz, P., J.L. Ramirez, G.A. Garcia & A.M. Ibarra. 1998. Genetic differences between two populations of catarina scallop (*Argopecten ventricosus*) for adaptations for growth and survival in a stressful environment. Aquaculture 166: 321-335.
- DiMichele, L. & D.A. Powers. 1991. Allozyme variation, developmental rate and differential mortality in the model teleost, *Fundulus heteroclitus*. Physiol. Zool. 64: 1426-1443.
- Douglas, R., O. Yajimovichb, J. Ledesma-Vazquez & S. Staines-Uriasa. 2006. Climate forcing, primary production and the distribution of Holocene biogenic sediments in the Gulf of California. Quaternary Sci. Rev. 26: 115-129.
- Eldridge, W.H. & K. Naish. 2007. Long-term effects of translocation and release numbers on fine-scale population structure among Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Mol. Ecol. 16: 2407-2421.
- Eudeline, B. & S.K. Allen. 2000. Optimization of tetraploid induction in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, using first polar body as a natural indicator. Aquaculture 187 (1-2): 73-84.
- Eudeline, B., S.K. Allen Jr. & X. Guo. 2000. Delayed meiosis and polar body release in eggs of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in relation to tetraploid production. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 248 (2): 151 - 161.

- Evans, B., J. Bartlett, N. Sweijd, P. Cook & N.G. Elliot. 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia *Haliotis rubra* and South Africa *Haliotis midae*. *Aquaculture* 223: 109-127.
- Felix-Pico, E.F., M. Villalejo-Fuerte, A. Tripp-Quezada & O. Holguin-Quiñones. 1999. Growth and survival of *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1835) in suspended culture at the national marine park of Bahía de Loreto, B.C.S., México. 12th International Pectinid Workshop, Bergen, Norway, pp. 39-40.
- Flores-Vergara, C., B. Cordero-Esquivel, A.N. Cerón-Ortiz & B.O. Arredondo-Vega. 2004. Combined effects of temperature and diet on growth and biochemical composition of the pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) spat. *Aquaculture Res.* 35: 1131-1140.
- Gaffney, P.M., C.V. Davis & R.O. Hawes. 1992. Assessment of drift and selection in hatchery populations of oysters *Crassostrea virginica*. *Aquaculture* 105: 1-20.
- García-Domínguez, F.A., P. Castro-Moroyoqui & E.F. Félix-Pico. 1992. Spat settlement and early growth of *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1835) in Laguna Ojo de Liebre, B.C. México, 1989-1990. Book of Abstracts Triennial Meeting Nat. Shellfish. Assoc., Orlando, Florida. *J. Shellfish Res.* 11: 195.
- Gilfillan, E.S., D. Mayo, S. Hanson, D. Donovan & L.C. Jiang. 1976. Reduction in carbon flux in *Mya arenaria* caused by a spill of no. 6 fuel oil. *Mar. Biol.* 37: 115-123.
- Gilk, S.E., I.A. Wang, C.L. Hoover, W.W. Smoker, S.G. Taylor, A.K. Gray & A.J. Gharrett. 2004. Outbreeding depression in hybrids between spatially separated pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, populations: marine survival, homing ability and variability in family size. *Environ. Biol. Fish.* 69: 287-297.
- González, E.B., K. Nagasawa & T. Umino. 2008. Stock enhancement program for Black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) in Hiroshima Bay: Monitoring the genetic effects. *Aquaculture* 276 (1-4): 36-43.
- González-Estrada, F. 2003. Temperatura letal y temperatura óptima para crecimiento en una población de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus* Sowerby,

- 1835). Tesis de maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. México. 90 p.
- Guo, X. & S.K. Allen. 1997. Sex and meiosis in autotetraploid Pacific Oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Genome* 40(3): 397-405.
- Guo, X., G.A. DeBrosse & S.K. Allen Jr. 1996. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture* 142: 149-161.
- Guo, X.G., & S.K. Allen. 1994. Reproductive potential and genetics of triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Biol. Bull.* 187: 309-318.
- Hamburger, K., F. Mohlenberg, A. Randlov & U. Riisgard. 1983. Size, oxygen consumption and growth in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 75: 303-306.
- Hawkins, A.J.S. & B.L Bayne. 1992. Physiological interrelations, and the regulation of production. En: Gosling E (Ed.) *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. Vol. 25. The mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. Elsevier, Amsterdam.
- Hernández-Rivas, M.E., S.P. Jiménez-Rosenberg, R. Funes-Rodríguez, R.J. Saldierna-Martínez. 2000. El centro de actividad biológica de la Bahía de Sebastián Vizcaíno, una primera aproximación. pp. 65-85. En: Lluch-Belda, D., Elorduy-Garay, J., Lluch-Cota, S.E., Ponce-Díaz, G. (Eds.) *Centros de Actividad Biológica del Pacífico Mexicano*. CIBNOR/CONACYT, La Paz BCS, México.
- Hernández-Trujillo, S. 2000. Variabilidad interanual del zooplancton en dos centros de actividad biológica del Noroeste Mexicano. pp. 165-183 En: Lluch-Belda, D., Elorduy-Garay, J., Lluch-Cota S.E., Ponce-Díaz G. (Eds.) *Centros de Actividad Biológica del Pacífico Mexicano*. CIBNOR/CONACYT, La Paz BCS, México.
- Humason, G. L. 1979. *Animal Tissue Techniques*. 4th ed. San Francisco: W. H. Freeman and Company. 350 p.
- Ibarra, A.M., 2006. Propuesta de investigación aplicada, CONVOCATORIA SEMARNAT 2006-01: Modelo biológico para alcanzar un balance entre la conservación y el aprovechamiento sustentable de los recursos marinos en

- reservas y parques naturales. Caso de estudio: almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). Fondo S0010. Convocatoria S0010-2006-1. Solicitud 23397.
- Ibarra-Humphries A.M., Ramírez-Arce, J.L. 2008. Manual Práctico. Inducción a la Triploidía con Citocalacina-B en Ostión Japonés, *Crassostrea gigas*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR) La Paz BCS, México. 19 p.
- Keen, A.M. 1971. Sea Shells of Tropical West America. Stanford: Stanford University Press, 1064 p.
- Kesarcodi-Watson A, D.W. Klumpp & J.S. Lucas. 2001b. Comparative feeding and physiological energetics in diploid and triploid Sydney rock oysters (*Saccostrea commercialis*)-II. Influences of food concentration and tissue energy distribution. *Aquaculture* 203: 195–216.
- Kirby, R.R., 2000. An ancient transpecific polymorphism shows extreme divergence in a multitrail cline in an intertidal snail (*Nucella lapillus* (L.)) *Mol. Biol. Evol.* 17(12): 1816–1825.
- Kiyomoto, M., K. Komaru, J. Scarpa, K.T. Wada, E. Danton & M. Awaji. 1996. Abnormal gametogenesis, male dominant sex ratio, and sertoli cell morphology in induced triploid mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Zool. Sci.* 13: 393-402.
- Koch, V., M. Mazón-Suastegui, F. Sinsel, M. Robles-Mungaray & D. Dunn. 2005. Lion's paw scallop (*Nodipecten subnodosus*, Sowerby, 1835) aquaculture in Bahía Magdalena, Mexico: effects of population density and season on juvenile growth and mortality. *Aquaculture Res.* 36: 505-512.
- Komaru, A. & K.T. Wada. 1989. Gametogenesis and growth of induced triploid scallop *Chlamys nobilis*. *Nippon Suisan Gakk.* 55: 447-452.
- Li, Q., C. Park, T. Endo & A. Kijima. 2004 Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. *Aquaculture* 235: 207-222.
- Lind, C. E., B.S. Evans, J. Knauer, J.J. Taylor & D.R. Jerry. 2009. Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). *Aquaculture* 286: 12-19.

- Lluch-Belda, D., J. Elorduy-Garay, S.E. Lluch-Cota, G. Ponce-Díaz, G. 200. Centros de Actividad Biológica del Pacífico Mexicano. CIBNOR/CONACYT, La Paz BCS, México.
- Lodeiros, C. & J.H. Himmelman. 1993. Relations among environmental conditions and growth in the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* (L.) in suspended culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquaculture* 119: 345-348.
- Lodeiros, C., J. Rengel, L. Freitas, F. Morales & J.H. Himmelman. 1998. Growth and survival of the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* maintained in suspended culture at three depths. *Aquaculture* 165: 41-50.
- Longo, F. K. 1972. The effects of cytochalasin B on events of fertilization in the surf clam, *Spisula siliidissima*. *J. Exp. Zool.* 182: 322-344.
- López-Martínez, M., O. Nevarez-Martínez, A. Leyva-Contreras & O. Sánchez. 2000. Análisis de tres variables oceanográficas en la región de Guaymas, Sonora, México. pp. 229-254 En: Lluch-Belda, D., Elorduy-Garay, J., Lluch-Cota, S.E., Ponce-Díaz, G. (Eds.) Centros de Actividad Biológica del Pacífico Mexicano. CIBNOR/CONACYT, La Paz BCS, México.
- MacDonald, B.A. & R.J. Thompson. 1985. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. I. Growth rates of shell and somatic tissue. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 25: 279-294.
- MacDonald, B.A. & Thompson, R.J. 1986. Influence of temperature and food availability on the ecological energetic of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. III. Physiological ecology, the gametogenic cycle and scope for growth. *Mar. Biol.* 93: 37-48.
- MacDonald, B.A., V.M. Bricelj & S.E. Shumway. 2006. Physiology: Energy Acquisition and Utilisation. pp. 417-474. En: Shumway, S. E. (Ed.) *Scallops: Biology and Aquaculture*. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Amsterdam: Elsevier. 1460 p.

- Maldonado-Amparo, R. & Ibarra, A.M. 2002a. Comparative analysis of oocyte type frequencies in diploid and triploid catarina scallop *Argopecten ventricosus* as indicators of meiotic failure. J. Shellfish Res. 21: 597-603.
- Maldonado-Amparo, R. & Ibarra, A.M. 2002b. Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in diploid and triploid catarina scallop (*Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842). J. Shellfish Res. 21: 93-101.
- Maldonado-Amparo, R. 2003. Poliploidía en moluscos de importancia comercial (almeja catarina *Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842; almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* Sowerby 1835; y abulón rojo *Haliotis rufescens* Swainson 1822). Tesis de Doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 201 p.
- Maldonado-Amparo, R., J.L. Ramirez, S. Avila & A.M. Ibarra. 2004 Triploid lion-paw scallop *Nodipecten subnodosus*: growth, gametogenesis and gametic cell frequencies. Aquaculture 235: 185-205.
- Marcano, J.S., A. Prieto, A. Lárez, J.J. Alió & H. Sanabria. 2005. Growth and mortality of *Pinctada imbricata* (Mollusca: Pteridae) in Guamachito, Araya Peninsula, Sucre State, Venezuela. Cienc. Mar. 31(2): 387-397.
- Martínez-López, A. & G. Verdugo-Díaz. 2000. Composición y dinámica del fitoplancton en el BAC de Bahía Magdalena, BCS. pp. 125-142 En: Lluch-Belda, D., Elorduy-Garay, J., Lluch-Cota S.E., Ponce-Díaz G., (Eds.) Centros de Actividad Biológica del Pacífico Mexicano. CIBNOR/CONACYT, La Paz BCS, México.
- Massó-Rojas, J.A., E. Morales-Bojórquez, J. Talavera-Mayer, M. Fajardo-León & R. Hernández-Valenzuela. 2000. La Pesquería de Almeja Mano de León, Baja California, pp. 349-366. En: Sustentabilidad y Pesca Responsable en México, Evaluación y Manejo. Instituto Nacional de Pesca, SAGARPA, México.
- Mazón-Suástegui, J.M. & M. Osuna-García. 2005. Tercer informe anual de actividades realizadas al amparo de un permiso de acuacultura de fomento, otorgado a la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Bahía Vizcaíno, S.C.L., para el cultivo de almeja mano de león *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus* (Sowerby, 1835) en la laguna Guerrero Negro, Municipio de

- Ensenada, Baja California, México. Programa de Acuacultura. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- Mestre, S. 1992. Ciclo gametogénico y de almacenamiento de reservas en una población natural de *Pecten jacobaeus* (Bivalvia: Pectinidae) en las costas de Castellón. Tesis de Doctorado, Universidad de Valencia, España. 411 p.
- Mitchell, D.L., D. Ivanova, R. Rabin, T. J. Brown & K. Redmond. 2002. Gulf of California sea surface temperatures and the North American monsoons: mechanistic implications from observations. *J. Climatol.* 15 (17): 2261-2281.
- Morales-Hernández, R., & C. Cáceres-Martínez. 1996. Pesquería de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. pp. 87-100. En: Casas-Valdéz, M. y G. Ponce-Díaz, (eds.), Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur. México. La Paz, B.C.S.: SEMARNAP, Gob. de B.C.S., FAO, U.A.B.C.S., CICIMAR-IPN, CRIP La Paz.
- Newell, R.C. 1979. Biology of Intertidal Animals. Marine Ecological Surveys Ltd., Faversham.
- Norris, A.T., D.G. Bradley & E.P. Cunningham. 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon *Salmo salar* populations. *Aquaculture* 180: 247-264.
- Osuna-García, M., 2006. Efecto de la densidad en el cultivo de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835), en la Península de Baja California México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional. 82 p.
- Pacheco-Ayub, C. & H. Herrera-Cervantes. 2008. Base de datos de temperatura y clorofila-a superficial del mar. Proyecto SEMARNAT-2002-C01-0278. (CIBNOR).
- Papa, R., 2005. Gene flow and introgression between domesticated crops and their wild relatives. 71- 76. En: The role of biotechnology. Turin, Italy, 5-7 March, 2005. <http://www.fao.org/biotech/docs/papa.pdf>
- Pazos, A.J., G. Román, C.P. Acosta, M. Abad & J.L. Sánchez. 1997. Seasonal changes in condition and biochemical composition of the scallop *Pecten maximus*

- L. from suspended culture in the Ria de Arousa (Galicia, N.W. Spain) in relation to environmental conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 211: 169-193.
- Petersen, J.L., A.M. Ibarra & B. May (aceptado). Nuclear and mtDNA lineage diversity in wild and cultured Pacific lion-paw scallop (Baja California Peninsula, Mexico). *Mar. Biol.* (2010).
- Petersen, J.L., A.M. Ibarra & B. May. 2006. Genetic consequences of a mass spawning event in the lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus*. Book of Abstracts, International Symposium of Genetics in Aquaculture IX, 26-30 June, 2006. Montpellier, France, pp. 82.
- Petersen, J.L., A.M. Ibarra & B. May. 2008a. A tale of two coasts: Population genetics of the Pacific lion-paw scallop. Abstracts, 100th Annual Meeting, April 6-10, 2008, pages 1040-1041. *Abstract. J. Shellfish Res.* 27(4): 965-1067.
- Petersen, J.L., A.M. Ibarra & B. May. 2008b. Culturing diversity? Contrasting genetic diversity between wild and cultured populations of Pacific lion-paw scallop. 31st Conference of the International Society of Animal Genetics, July 20-24, 2008, Amsterdam, The Netherlands. Poster #3004. Abstract.
- Petersen, J.L., A.M. Ibarra, J.L. Ramirez & B. May. 2008c. An induced mass spawn of the hermaphroditic lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus*: Genetic assignment of maternal and paternal parentage. *J. Heredity* 99(4): 337–348.
- Philipp, D.P., J.E. Claussen, T.W. Kassler & J.M. Epifanio. 2002. Mixing stocks of largemouth bass reduces fitness through outbreeding depression. En: Philipp, D.P. & M.S. Ridgway (Eds.) *Black Bass: Ecology, Conservation and Management*. American Fisheries Society Symposium 31, Bethesda, Maryland, USA. pp. 349-363.
- Pilditch, C.A. & J. Grant. 1999. Effect of temperature fluctuations and food supply on the growth and metabolism of juvenile sea scallop (*Placopecten magellanicus*). *Marine Biology* 134: 235-248.
- Powers, D.A. & A.R. Place. 1978. Biochemical genetics of *Fundulus heteroclitus*. I. Temporal and spatial variation in gene frequencies of: Ldh-B, Mdh-A, Gpi-B and Pgm-A. *Biochem. Genet.* 16: 593-607.

- Quintero-Ojeda, N.V. 2003. Crecimiento y Supervivencia de la Almeja Mano de León *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835) en dos Artes de Cultivo en el Estero El Cardón, Laguna San Ignacio, B.C.S. México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 67 p.
- Racotta, I.S., E. Palacios, A.M. Ibarra, J.L. Ramírez, F. Arcos & O. Arjona. 2008. Comparative biochemical composition of ploidy groups in the lion-paw scallop (*Nodipecten subnodosus* Sowerby) supports the physiological hypothesis for the lack of advantage in triploid mollusk growth in food-rich environments. *Mar. Biol.* 153: 1245-1256.
- Racotta, I.S., J.L. Ramirez, A.M. Ibarra, M.C. Rodríguez-Jaramillo, D. Carreño & E. Palacios. 2003. Growth and gametogenesis in the lion-paw scallop *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*. *Aquaculture* 217: 335-349.
- Ramirez, J.L., S. Avila, & A.M. Ibarra. 1999 Optimization of forage in two food-filtering organisms with the use of a continuous, low-food concentration agricultural drip system. *Aquaculture Eng.* 20: 175-189.
- Reyes-Salinas, A. 1994. Relación entre estructura hidrográfica y la abundancia, distribución y origen de diferentes expresiones de biomasa del seston orgánico en Bahía Concepción, Golfo de California. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 86 p.
- Robinson, W.E., W.E. Wehling, M.P. Morse & G.C. MacLeod. 1981. Seasonal changes in soft-body component indices and energy reserves in the Atlantic deep sea scallop *Placopecten magellanicus*. *Fish. Bull.* 79: 449-458.
- Ruiz-Verdugo, C.A., J.L. Ramírez, S.K. Allen & A.M. Ibarra. 2000. Triploid catarina scallop (*Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842): growth, gametogenesis, and suppression of functional hermaphroditism. *Aquaculture* 186: 13-32.
- Ruiz-Verdugo, C.A., S.K. Allen & A.M. Ibarra. 2001. Family differences in success of triploid induction and effects of triploidy on fecundity of catarina scallop *Argopecten ventricosus*. *Aquaculture* 201: 19–33.
- SAGARPA. 2008. Oficina Regional de BCS. México. Reporte de Estadísticas de Producción de la Almeja Mano de León en el Estado de Baja California Sur.

- Sastry, A.N. 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). En: Giese, A.C. y J.S. Pearse (eds.) *Reproduction of Marine Invertebrates*. New York: Academic Press. pp. 113-292.
- Sastry, A.N. & N.J. Blake. 1971. Regulation of gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biol. Bull. US*. 140: 274-282.
- Shpigel, M., J. Bruce, J. Barber & R. Mann. 1992. Effects of elevated temperature on growth, gametogenesis, physiology and biochemical composition in diploid and triploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 161: 15-25.
- Sicard, M.T., A.N. Maeda-Martínez, S.E. Lluch-Cota, C. Lodeiros, L.M. Roldán-Carrillo & R. Mendoza-Alfaro. 2006. Frequent monitoring of temperature: an essential requirement for site selection in bivalve aquaculture in tropical-temperate transition zones. *Aquaculture Res.* 37: 1040-1049.
- Smith, J.T., 1991. Cenozoic giant Pectinids from California and Tertiary Caribbean Provinces: *Lyropecten*, *Macrochlamys*, *Vertipecten*, and *Nodipecten* species. USGS, Washington DC. 166 p.
- Smith, P.J. & A.M. Conroy, 1992. Loss of genetic variation in hatchery-produced abalone *Haliotis iris*. *New Zeal. J. Mar. Fresh.* 26: 81-85.
- Sommer, A.M. & H.O. Pörtner. 2002. Metabolic cold adaptation in the lugworm *Arenicola marina*: comparison of a North Sea and a White Sea population. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 240: 171-182.
- Tabarini, C.L., 1984. Induced triploidy in the bay scallop *Argopecten irradians*, and its effect on growth and gametogenesis. *Aquaculture* 42: 151-160.
- Tankersley, R.A. & M.G. Wieber. 2000. Physiological responses of postlarval and juvenile blue crabs *Callinectes sapidus* to hypoxia and anoxia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 194: 179-191.
- Taylor, A.C. & T.J. Venn. 1979. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of the queen scallop *Chlamys opercularis* from the Clyde Sea Area. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 59: 605-621.
- Thompson, R.J. & B.A. MacDonald. 2006. Physiological integrations and energy partitioning. pp. 493-516. En: Shumway, S. E. (Ed.) *Scallops: Biology and*

- Aquaculture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Amsterdam: Elsevier. 1460 p.
- Thorgaard, C.L., 1983. Chromosome set manipulation and sex control in fish. pp. 405-434., Hoard, W.S., D.J., Randall & E.M. Donaldson (Eds.), Fish Physiology Vol. 9 (B), Academic Press, London.
- Thunell, R., C. Pride, P. Ziveri, F. Muller-Karger, C. Sancetta & D. Murray. 1996. Plankton response to physical forcing in the Gulf of California. J. Plankton Res. 18 (11): 2017-2026.
- Triantafyllidis, A., N. Karaiskou, F. Bonhomme, L. Colombo, D. Crosetti, D. Danancher, E. García-Vázquez, J. Gilbey, T. Svåsand, & E. Verspoor, C. 2007. Management options to reduce genetic impacts of aquaculture activities, pp. 161-168. En: Compendium: Genetic Impact of Aquaculture Activities on Native Populations. 176 p. <http://genimpact.imr.no>
- Utting, S.D., P.F. Millican & I. Laing. 1996. The breeding potential and biochemical composition of triploid Manila clams, *Tapes philippinarum* Adams and Reeve. Aquaculture Res. 27: 573-580.
- Vahl, O. 1980. Seasonal variations in seston and in the growth rate of the Iceland scallop, *Chlamys islandica* (O.F. Müller) from Balsfjord, 70°N. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 48: 195-204.
- Villalejo-Fuerte, M., M. Arellano-Martínez, M. Robles-Mungaray & B.P. Ceballos-Vázquez. 2004. Notes on the growth, survival, and reproduction of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* maintained in a suspended culture. Hidrobiológica 14(2): 161-165.
- Ward, R.D. 2006. The importance of identifying spatial population structure in restocking and stock enhancement programmes. Fish. Res. 80: 9-18.
- Ward, R.D., K.E. Jorstad & G.B. Maguire. 2003. Microsatellite diversity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* introduced to Western Australia. Aquaculture 219: 169-179.
- Was, A., & R. Wenne. 2002. Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout *Salmo trutta* in the southern Baltic at microsatellite loci. Aquaculture 204: 493-506.

Wieser, E. 1973. Temperature relations of ectotherms: a speculative review. En: Wieser E. (Ed), Effects of Temperature on Ectothermic Organisms: Ecological Implications and Mechanisms of Compensation. Springer-Verlag, New York. pp. 1-23.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis. Cuarta edición. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. 663 p.