

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE CIENCIAS MARINAS



“COMPARACION DEL PATRON REPRODUCTIVO DE
***Megapitaria squalida* (SOWERBY, 1835) EN LA LAGUNA OJO**
DE LIEBRE, OCEANO PACIFICO Y EN BAHIA JUNCALITO,
GOLFO DE CALIFORNIA, B.C.S., MEXICO “.

TESIS QUE PRESENTA EL BIÓLOGO

Marcos Fabian Quiñones Arreola

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

La Paz, B.C.S. Agosto del 2003.

ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABLAS	II
GLOSARIO	III
RESÚMEN	VIII
ABSTRACT	X
<u>1. INTRODUCCIÓN</u>	2
<u>2. ANTECEDENTES</u>	5
<u>2.1. Taxonomía de Megapitaria Squalida</u>	6
<u>3. JUSTIFICACIÓN</u>	7
<u>4. HIPÓTESIS</u>	9
<u>5. OBJETIVOS</u>	9
<u>5.1. General</u>	9
<u>5.2. Particulares</u>	9
<u>6. METODOLOGÍA</u>	10
<u>6.1. Área de estudio</u>	10
<u>6.2. Recolecta de organismos</u>	14
<u>6.3. Técnica histológica</u>	14
<u>6.4. Proporción de sexos</u>	16
<u>6.5. Caracterización de las fases de desarrollo gonádico</u>	17
<u>6.6. Determinación del ciclo reproductivo</u>	18
<u>6.7. Época de reproducción</u>	18
<u>6.8. Índice de madurez</u>	18
<u>6.9. Diámetro de ovocitos</u>	19
<u>6.10. Porcentaje de área folicular</u>	20
<u>6.11. Análisis estadísticos</u>	21
<u>7. RESULTADOS</u>	22
<u>7.1. Descripción histológica de las fases de desarrollo gonádico</u>	22
<u>7.2. Hermafroditismo</u>	25
<u>7.3. Proporción de sexos/mes</u>	26
<u>7.4. Proporción de sexos/clase de talla</u>	28
<u>7.5. Ciclo reproductivo</u>	30
<u>7.6. Época de reproducción</u>	35
<u>7.7. Temperatura</u>	35
<u>7.8. Índice de madurez</u>	36
<u>7.9. Diámetro de ovocitos</u>	38
<u>7.10. Porcentaje de área folicular</u>	40
<u>7.11. Correlación entre las variables</u>	41
<u>8. DISCUSIÓN</u>	44
<u>9. CONCLUSIONES</u>	53
<u>10. RECOMENDACIONES</u>	54
<u>11. LITERATURA CITADA</u>	55

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Localización geográfica de la Laguna Ojo de Liebre en Baja California Sur, México.	11
Figura 2.- Localización geográfica de Bahía Juncalito, Baja California Sur, México.	13
Figura 3.- Pasos a seguir para aplicar la técnica histológica.	14
Figura 4.- Gónada indiferenciada tomada a un aumento de 10 x.	22
Figura 5.- Gónadas en fase de desarrollo: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 x.	23
Figura 6.- Gónadas en fase de madurez: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 x.	23
Figura 7.- Gónadas en fase de desove: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 x.	24
Figura 8.- Gónadas en fase de posdesove: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 x.	25
Figura 9.- Gónada de un organismo hermafrodita. EZ, espermatozoides; OV, ovocitos. Tomada a un aumento de 10 x.	25
Figura 10.- Ciclo reproductivo en hembras de <i>M. squalida</i> en la Laguna Ojo de Liebre.	31
Figura 11.- Ciclo reproductivo en machos de <i>M. squalida</i> en la Laguna Ojo de Liebre.	32
Figura 12.- Ciclo reproductivo en hembras de <i>M. squalida</i> en Bahía Juncalito.	33
Figura 13.- Ciclo reproductivo en machos de <i>M. squalida</i> en Bahía Juncalito.	34
Figura 14.- Variación de la temperatura registrada en la Laguna Ojo de Liebre y Bahía Juncalito.	36
Figura 15.- Variación del índice de madurez de hembras en la Laguna Ojo de Liebre y Bahía Juncalito.	37
Figura 16.- Variación del Índice de madurez de machos en la Laguna Ojo de Liebre y Bahía Juncalito.	38
Figura 17.- Variación del diámetro promedio de ovocitos en la Laguna Ojo de Liebre y Bahía Juncalito.	39
Figura 18.- Variación del porcentaje de área folicular en la Laguna Ojo de Liebre y Bahía Juncalito.	40
Figura 19.- Diámetro de ovocitos vs. porcentaje de área folicular en: a) Laguna Ojo de Liebre y b) Bahía Juncalito.	41
Figura 20.- Comparación de la variación del índice de madurez y la temperatura del agua en: a) Laguna Ojo de Liebre y b) Bahía Juncalito.	43

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1.- Tiempos de inmersión para el proceso histológico. Abreviaciones: 80, 96 y 100, concentraciones de alcohol (%), h, horas; m, minutos; OH-HeDe, mezcla 1:1 de alcohol-hemo De; HeDe, Hemo De 100%; HeDe-P, Hemo De – Parafina 1:1; I, II, pasos de parafina 100%.	15
Tabla 2.- Tiempos de inmersión para el proceso de tinción. Abreviaciones: Am, Americlear; 70, 96 y 100 concentraciones de alcohol (%); Ag, agua; AgAmo, agua amoniacal; Eo, eosina; m, minutos; OHac, alcohol ácido; s, segundos.	16
Tabla 3.- Variables morfométricas de <i>M. squalida</i> de la Laguna Ojo de Liebre.	26
Tabla 4.- Proporción mensual de sexos de <i>M. squalida</i> de la Laguna Ojo de Liebre.	27
Tabla 5.- Variables morfométricas de <i>M. squalida</i> de Bahía Juncalito.	27
Tabla 6.- Proporción mensual de sexos de <i>M. squalida</i> de Bahía Juncalito.	28
Tabla 7.- Proporción de sexos por clase de talla de <i>M. squalida</i> de la Laguna Ojo de Liebre.	29
Tabla 8.- Resultados de la proporción de sexos por clase de talla de <i>M. squalida</i> de Bahía Juncalito.	30

GLOSARIO

Acini: Centro de desarrollo gametogénico; folículos en hembras y túbulos en machos.

Acinus: (Plural acini). Pequeño saco cuyas paredes están formadas por células secretoras.

Células foliculares: Células que envuelven al gameto femenino formando el folículo; estas células proveen los elementos con que se nutre el gameto femenino.

Células sexuales: Células pertenecientes a la estirpe germinal, que sufren una diferenciación en células masculinas o femeninas y cuya finalidad es la fecundación.

Ciclo gametogénico: Eventos repetitivos dentro de las gónadas que conducen a la formación de gametos.

Ciclo gonádico: Evento repetitivo dentro de las gónadas y que conducen a la reproducción de gametos.

Ciclo reproductivo: Frecuencia de aparición de las diferentes fases de desarrollo gonádico a través del año y que en general es cíclico.

Dióico: Relativo a aquellos organismos en los cuales los órganos reproductores femeninos y masculinos se encuentran en diferentes individuos.

Epitelio germinal: Epitelio peritoneal colonizado por las células germinales primitivas y que al final del desarrollo embrionario se localiza en las gónadas conteniendo las células sexuales.

Espermatogénesis: Evolución de las células germinales masculinas de la espermatogonia al espermatozoide.

Espermatogonia: Célula germinal de la estirpe masculina, diploide, que se multiplica activamente por mitosis en la zona germinativa de los testículos.

Espermatozoide: Gameto masculino haploide y maduro, caracterizado por su movilidad.

Etapa reproductiva: Tiempo en el que la mayoría de la población expulsa los gametos al medio (desovan).

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

Folículo: Órgano en forma de pequeño saco.

Gameto: Célula reproductora madura, masculina o femenina. Los gametos masculino y femenino se fusionan en el momento de la fecundación para formar el huevo o cigoto.

Gametogénesis: Evolución citológica de las células germinales en gametos en el seno de las gónadas.

Gonocórica: Especie en que los sexos radican en diferentes individuos; es decir, hay machos y hembras.

Gonocorismo: Condición de una especie en la que los organismos presentan órganos sexuales de un solo sexo, macho o hembra.

Gránulos de vitelo: Forma más usual de almacenamiento de alimentos en el ovocito.

Hermafrodita funcional: Organismos cuyas gónadas consisten de acinis machos y hembras en zonas distintas, separadas de tal manera que una parte de la gónada funciona como un testículo y la otra parte como ovario. Los gametos masculinos y femeninos maduran al mismo tiempo.

Hermafroditismo accidental: Cuando en un individuo de una especie se presentan gónadas en las que se observan gametos masculinos y femeninos al mismo tiempo, sin que esto sea una condición normal dentro de la especie.

Hermafroditismo: Tipo de sexualidad propio de las especies cuyos componentes (individuos hermafroditas) producen simultáneamente gametos masculinos y gametos femeninos.

Índice de madurez: Valor numérico que expresa el estado de madurez o la fase del desarrollo gonádico en que se encuentra un organismo.

Intensidad del desove: Porcentaje de los organismos en la muestra que se encuentran en fase de desove.

Oogonia: Nombre que recibe la célula sexual femenina diploide que todavía no ha iniciado su crecimiento.

Oviducto: Conducto genital que forma la vía de paso de los óvulos, elaborados en los ovarios, y que son evacuados hacia el exterior en el momento de la puesta.

Ovocito: Célula sexual femenina en fase de crecimiento y que experimenta la meiosis.

Ovogénesis: Conjunto de transformaciones que experimenta la célula sexual femenina hasta convertirse en un óvulo maduro.

Ovogonia: A partir del momento en el que la gónada femenina se diferencia sexualmente, designa la célula sexual diploide que todavía no ha iniciado su crecimiento.

Patrón reproductivo: Es la frecuencia con que se presenta el evento reproductivo en una población, pudiendo ocurrir rítmicamente o esporádicamente durante parte o todo el año.

Proporción sexual: Relación porcentual de hembras y machos en un grupo de organismos.

Protándrico: Especie en donde los individuos más jóvenes son machos y los más viejos hembras.

Reversión sexual: La transformación de un individuo de un sexo en uno del sexo contrario.

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

Túbulos espermáticos: Conductos que llevan el esperma maduro al exterior.

Vitelo: Material nutritivo en forma de gránulos, presente en el citoplasma de un óvulo.

Vitelogénesis: Proceso mediante el cual se acumula el vitelo en el citoplasma del ovocito.

RESÚMEN

A pesar de la importancia comercial de la almeja Chocolate *Megapitaria squalida*, se conoce muy poco sobre su biología, y casi nada sobre su reproducción. En Baja California Sur, las poblaciones de almeja chocolate se han visto disminuidas debido a cambios en el ambiente y al desarrollo de actividades pesqueras y turísticas. Actualmente la captura de la almeja chocolate está siendo parcialmente regulada a partir de un estudio realizado en la década pasada en la Bahía de La Paz. Sin embargo, se ha reportado que pueden existir diferencias en el patrón reproductivo de una especie relacionadas con las condiciones ambientales de cada lugar. Así, en el presente estudio se analiza de manera comparativa el patrón reproductivo de *M. squalida* en Bahía Juncalito y en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., para establecer si existen diferencias en el patrón reproductivo. Para ello, se realizaron muestreos mensuales de 30 organismos en cada localidad a lo largo de doce meses, llevando un registro de variables morfométricas. Se procesaron histológicamente secciones de tejido que incluyeran gónada y se realizó la caracterización cualitativa de las preparaciones, considerando 5 fases de desarrollo gonádico: indiferenciación, desarrollo, madurez, desove y posdesove. Se aplicaron también variables cuantitativas como indicadores de la actividad reproductiva (índice de Madurez, diámetro de ovocitos y porcentaje de área folicular). Los resultados histológicos corroboraron que *M. squalida* es un

organismo gonocórico, pero que presenta hermafroditismo incidental; condición que no había sido

previamente reportada para la especie. En cuanto a la proporción sexual, no se encontraron diferencias significativas para ambas localidades (χ^2 , $P > 0.05$).

La actividad reproductiva en Bahía Juncalito se presentó de manera continua durante todo el año, con diferentes picos de reproducción; mientras que en Ojo de Liebre se observó una estacionalidad bien marcada (septiembre a enero) definida por las bajas temperaturas. Los resultados cualitativos y cuantitativos obtenidos nos permiten concluir que sí existen diferencias en los patrones reproductivos de *M. squalida* entre ambas localidades.

ABSTRACT

Although the importance of the Brown Clam *Megapitaria squalida*, the knowledge about biology and reproduction, is less known. In Baja California Sur the populations of the brown clam has been decreased, due to environmental changes, and the development of fisheries and tourist activities. Actually the catching of brown clam, is partially regulated from an study done for Bahía de la Paz ten years ago. However, some authors have been reported that could be some differences on the reproductive patterns among populations, due to the environmental conditions of each place. For that reason, the present work, compare the reproductive pattern of *Megapitaria squalida*, in Bahía Juncalito and Laguna Ojo de Liebre to establish if there are some differences among localities. For this purpose, 30 clams were collected in each place monthly. Every time, a record of morphometrical values was taken. Histological observations were made, and the sequence of gonadal stages was analyzed based on samples of tissue (gonad included). For females and males, the developmental phases were classified in to five stages: Undifferentiated, Developing, Ripe, Spawned, and Spent stage. Quantitative variables were applied as indicators of reproduction activities, such as Percentage of alveolar area, Oocytes diameter, and Gonad Index. Histological results, shown *Megapitaria squalida* as a gonochoric organism, but incidental hermaphroditism is present.

This condition was not reported before for this specie. About sexual ratio, we do not found differences among localities (χ^2 , $P > 0.05$). The reproduction activity for

Bahía Juncalito, shown a continuous behavior during the year, while Ojo de Liebre shown a period of reproduction clearly defined by the lower temperatures. Finally we can conclude, based on the quantitative and qualitative results that there are important differences on the reproductive patterns for both localities.

1. INTRODUCCIÓN

Los moluscos son uno de los grupos de invertebrados mejor estudiados, su diversidad se manifiesta por ejemplo, en la descripción de más de 20,000 especies de gasterópodos y 10,000 especies de bivalvos. Se ha calculado que existen entre 65,000 y 100,000 moluscos que habitan en tierra, en agua dulce y en agua marina (Holguín-Quiñones y González-Pedraza, 1994). En la Provincia Panámica que se extiende del Golfo de California a Chiapas, tan solo se han descrito cerca de 3,000 especies (Briggs, 1974).

En el año 2000, se produjeron 6,410 toneladas de almejas en Baja California Sur, lo que representa casi el 70% de la producción nacional total. Dentro de la captura nacional en ese año, Baja California Sur ocupó el primer lugar dentro de la captura del grupo de especies más importante, conocido como “almejas”. En este estado se explotan varias especies de bivalvos, que pertenecen a diversas familias. Existen también otras especies de bivalvos que en décadas pasadas representaron gran importancia económica pero que fueron objeto de una pesquería sin regulación, como la almeja voladora *Pecten vogdesi*, la madreperla *Pinctada mazatlanica* y la concha nácar *Pteria sterna*. Así mismo, hay especies que son recursos pesqueros potenciales como la almeja navaja *Tagelus californianus*, la almeja cofre *Arca pacifica*, la almeja violín *Cardita affinis* y el ostión negro *Hyotissa fisheri*.

Aunque las almejas son muy apreciadas en México su cultivo no ha sido desarrollado debido a la abundancia y diversidad de las especies que se encuentran en las costas mexicanas. Algunas de estas especies han sido

explotadas por muchos años con poca o ninguna regulación (Baqueiro, 1989). Este es el caso de especies como la almeja roja *Megapitaria aurantiaca* y la almeja chocolate *M. squalida* (García-Gasca y García-Domínguez, 1995), especies que se encuentran entre los pelecípodos más abundantes en Baja California Sur, y que han sufrido una explotación desmedida por su aprovechamiento principalmente para consumo humano y en menor escala la concha se utiliza para la manufactura de artesanías (Castro-Ortiz *et al.*, 1992). *M. squalida* es una especie que se distribuye desde la Laguna Ojo de Liebre en Baja California Sur, México, hasta Macora, Perú. (Keen, 1971). Se encuentra sobre fondos arenosos o lodosos a una profundidad de entre 1 y 20 m frecuentemente se le encuentra asociada con *Dosinia ponderosa*, aún cuando llega a formar grandes bancos por sí sola. Esta especie, puede observarse a densidades que van de 1 a 16 organismos por metro cuadrado. Respecto a sus tallas, llegan a medir, en promedio 120 mm de longitud, 97 mm de alto y 68 mm de ancho (Singh *et al.* 1991).

En Baja California Sur, *M. squalida* ha sido explotada desde hace varias décadas. Sin embargo, en los últimos años, se ha visto intensificada su captura; pasando de 125 toneladas en 1985 a más de 400 toneladas en 1988 (Singh *et al.* 1991). En la costa occidental, ha sido explotada en las localidades de San Ignacio, El Comitán, El Bateque y en el complejo Bahía Magdalena-Almejas, mientras que en el Golfo de California, la especie se ha capturado en el límite de Santa Rosalía, Bahía de Santa Inés, Bahía Concepción y en el área de Loreto en las localidades conocidas como Notri, Juncalito, Ensenada Blanca y Ligüi. También se ha

capturado en las Islas de San José y Espiritu Santo en Bahía de La Paz (SEPESCA, 1994).

A pesar de su importancia comercial, se conoce muy poco sobre la biología y casi nada sobre su reproducción. Uno de los estudios más importantes, es la determinación del ciclo reproductivo, el cual permite entender mejor la estrategia reproductiva en términos de su desarrollo gametogénico, así como permitir establecer épocas de veda y tallas mínimas de captura con mayor precisión (Cruz y Villalobos, 1993; Rodríguez *et al.*, 1993).

Se sabe que la producción de gametos en bivalvos está fuertemente influenciada por factores exógenos como la temperatura, fotoperíodo, disponibilidad de alimento, etc. y factores endógenos ya sean genéticos u hormonales (Cruz y Villalobos, 1993; Rodríguez *et al.* 1993), por lo que el patrón del ciclo reproductivo de una especie en un área geográfica determinada puede variar con relación a las diferencias en la temperatura del agua que se presenta año con año. Ropes (1968), Porter (1964) y Hesselman *et al.* (1989), mencionan que las diferencias en el ciclo reproductivo entre las distintas poblaciones parecen ser el resultado de respuestas fenotípicas a la variación de las condiciones ambientales, principalmente a la disponibilidad de alimento y temperatura. En este sentido, Baqueiro (2000), menciona que algunas especies de moluscos, presentan diferente recuperación gonádica y patrones de desove asociados con condiciones microambientales. En especies de diferentes localidades y de hábitats similares, se han observado diferencias en su ciclo gonádico basados en periodos de máxima

actividad (Gibson, 1978; Baqueiro, 2000). Las variaciones en los patrones de reproducción de la misma especie en diferentes localidades, pueden estar asociadas a inestabilidades ambientales o variaciones en parámetros críticos con una tendencia a optimizar los procesos reproductivos mediante diferentes alternativas: una rápida gametogénesis con acumulación de gametos maduros, una gametogénesis lenta, con acumulación ausente o limitada de gametos maduros, desoves asincrónicos constantes y desoves sincrónicos, en limitados o extensos periodos de tiempo (Baqueiro, 2000).

2. ANTECEDENTES

En la Costa Occidental de México se han estudiado los ciclos reproductivos de varias especies, en Baja California Sur destacan trabajos de *Pinctada mazatlanica* (Sevilla, 1969); *Pinna rugosa* (Noguera y Gómez-Aguirre, 1972; Ceballos-Vázquez, *et al.*, 2000), *Argopecten circularis* (Baqueiro *et al.*, 1981; Villalejo-Fuerte y Ochoa-Báez, 1993; Félix-Pico, 1993), *Anadara tuberculosa* (Baqueiro *et al.*, 1982), *Modiolus capax* (Ochoa-Báez, 1985), *Chione undatella* (Baqueiro y Massó, 1988), *Megapitaria squalida* (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1996a), *Chione californiensis* (García-Domínguez *et al.*, 1994), *Glycymeris gigantea* (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1996b), *Cardita affinis* y *Arca pacifica* (Gorrostieta-Hurtado, 1997), *Dosinia ponderosa* (Arreola-Hernández, 1997).

En el Pacífico Mexicano, *M. squalida* ha sido estudiada en sus aspectos ecológicos por Baqueiro y Stuardo (1977) y en Bahía Concepción por Castro-Ortiz *et al.*, (1992). El crecimiento de esta especie fue descrito por Anguas-Vélez y Castro-Ortiz (1990). Baqueiro (1976) reportó que la almeja chocolate crece a razón de 5 mm mensuales en el área de Zihuatanejo. Similares resultados reportó SEPESCA (1994) en Punta Coyote en la costa de la Bahía de La Paz, Baja California Sur. García-Gasca y García-Domínguez (1995) por su parte, realizaron estudios de histología comparada en manto de las almejas *M. aurantiaca* y *M. squalida*. El ciclo reproductivo ha sido determinado por Baqueiro (1976) en Zihuatanejo y Villalejo-Fuerte *et al.*, (1996) en Bahía Juncalito; en ambos casos los autores coinciden que *M. squalida* es una especie que tiene un periodo

reproductivo que se prolonga durante todo el año. Si bien la talla mínima de reproducción no ha sido definida con exactitud, SEPESCA (1994) sugirió la talla de 60 mm como talla provisional en tanto se logren hacer estudios complementarios que permitan ratificar o rectificar tal decisión.

2.1. TAXONOMÍA DE *Megapitaria squalida* (Tomado de Keen, 1971).



Phylum Mollusca Cuvier, 1797

Clase Pelecypoda Linnaeus, 1758

Subclase Heterodonta Neumayr, 1884 (Lamellibranchia)

Orden Veneroida H. Y A. Adams, 1856

Superfamilia Veneracea Rafinesque, 1815

Familia Veneridae Rafinesque, 1815

Subfamilia Pitarinae

Género *Megapitaria* Grant y Gale, 1931

Especie *Megapitaria squalida* Sowerby, 1835

3. JUSTIFICACIÓN

En México, la legislación pesquera establece que todo recurso proveniente del mar, debe ser evaluado antes de emitir cualquier permiso que permita su captura. Una evaluación previa al inicio de un aprovechamiento comercial, indica la disponibilidad de un recurso en un momento dado, pero no define el régimen de explotación y la vulnerabilidad de la especie, por lo que deben conocerse los parámetros poblacionales para determinar el potencial de regeneración. Los parámetros poblacionales más importantes en una pesquería son: abundancia del recurso, estructura poblacional, grupos de edades, crecimiento, mortalidad, reproducción y fecundidad (Baqueiro *et al.*, 1982).

En Baja California Sur, poblaciones como la de la almeja chocolata, se han visto disminuidas debido a cambios en el ambiente y desarrollo de actividades pesqueras y turísticas (Baqueiro *et al.*, 1982); por lo anterior y debido a su importancia pesquera es necesario evaluar la actividad reproductiva en las distintas zonas de captura de *M. squalida*, con el fin de determinar si presentan el mismo patrón reproductivo y así poder aportar elementos que nos indiquen el régimen de captura para cada localidad.

La determinación del ciclo reproductivo de una especie, es uno de los eslabones mas importantes para poder comprender la biología de una especie antes de emprender cualquier aprovechamiento y precisamente una de las herramientas más utilizadas para este fin, es la utilización de métodos histológicos, ya que nos permiten entender mejor la estrategia reproductiva en

términos de su desarrollo gametogénico, así como establecer épocas de veda y tallas mínimas de captura con mayor precisión que cualquier otro método (Villalejo-Fuerte, 2000).

Por otro lado, el conocimiento de la reproducción en poblaciones de bivalvos puede ser utilizado para lograr técnicas eficientes que permitan lograr el mejor acondicionamiento en cultivo, o inducir el desove. También puede ser aprovechado para ayudar a evitar el agotamiento de los bancos sobre-explotados y su conservación, así como promover el repoblamiento de bancos naturales (Prado-Ancona, 1998). En el caso del presente estudio, resulta particularmente importante el trabajar con la caracterización del patrón reproductivo de una especie tan importante desde el punto de vista pesquero, como lo es la almeja chocolata, y más aún cuando se trata de dos poblaciones que por su ubicación geográfica, viven en localidades con características ambientales muy particulares que las hacen totalmente diferentes entre sí. Por un lado, encontramos a la población de almejas ubicada en la localidad de Bahía Juncalito en el Golfo de California, que es una zona, donde las actividades pesqueras y de la industria, se encuentran muy poco desarrolladas; por el otro lado, se encuentra la Laguna Ojo de Libre, localizada en el Océano Pacífico, donde existe una intensa actividad pesquera, así como un importante complejo industrial dedicado a la extracción de sal a grandes volúmenes. Por lo anterior resulta importante conocer y comparar el patrón reproductivo de la almeja chocolata, en estas dos zonas.

4. HIPÓTESIS

Considerando que cada una de las zonas de muestreo presenta características particulares se espera que existan diferencias en el patrón reproductivo de *M. squalida* entre las dos poblaciones estudiadas.

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Comparar el patrón reproductivo de *Megapitaria squalida* en Bahía Juncalito, Golfo de California y la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México.

5.2. PARTICULARES

- ❑ **Caracterizar y describir las fases del desarrollo gonádico.**
- ❑ **Determinar la proporción de sexos por mes y por clase de talla en cada localidad.**
- ❑ **Caracterizar el ciclo reproductivo y establecer la época de reproducción en ambas localidades.**
- ❑ **Realizar un análisis cuantitativo del proceso gametogénico.**
- ❑ **Establecer la relación del ciclo reproductivo con la temperatura en cada localidad.**
- ❑ **Comparar el patrón reproductivo entre localidades.**

6. METODOLOGÍA

6.1. Área de estudio.

Para el estudio, se contemplaron dos localidades: La Laguna Ojo de Liebre, que se ubica en el área del Pacífico Mexicano ($27^{\circ} 55'$ - $28^{\circ} 05'N$ y $114^{\circ} 03'$ - $114^{\circ} 10'$ O); y Bahía Juncalito, ubicada en el Golfo de California ($27^{\circ} 55'$ - $28^{\circ} 05'N$ y $114^{\circ} 03'$ - $114^{\circ} 10'$ O) en Baja California Sur, México. Para la laguna Ojo de Liebre se contempló un sólo sitio de muestreo, ubicado en un banco conocido como el Borbollón; mientras que para Bahía Juncalito se usaron datos obtenidos con anterioridad (Villalejo-Fuerte *et al.*, 2000) provenientes de tres sitios de muestreo.

Laguna Ojo de Liebre

La laguna Ojo de Liebre forma parte del complejo lagunar Sebastián Vizcaíno, el cual es un sistema con desembocaduras separadas que se encuentran en la Bahía del Vizcaíno. La Laguna Ojo de Liebre se encuentra localizada entre los $27^{\circ} 55'$ - $28^{\circ} 05'N$ y $114^{\circ} 03'$ - $114^{\circ} 10'$ O, con una superficie total de 160 km² (Fig.1). El rango máximo de mareas que se registra es de 2.61 m y genera corrientes por arriba de los 50 cm que a su vez forman canales de mayor profundidad entre los pastos marinos y los bancos de arena intermareales. La profundidad promedio de la laguna es de 1.5 m. En cuanto a las condiciones ambientales, podemos hablar de una temperatura ambiente que fluctúa desde los 12.3 °C en diciembre hasta los 20.4 °C en agosto. El balance hidrológico (diferencia entre la cantidad de lluvia y evaporación) es negativo a lo largo del año, con una precipitación anual de 144.4

mm. La evaporación máxima ocurre durante el verano en el mes de Julio principalmente, mientras que la mínima tiene lugar durante los meses de diciembre y enero, ocasionando un incremento en la salinidad, que a su vez da origen a un ambiente hipersalino (Baqueiro, 2000).

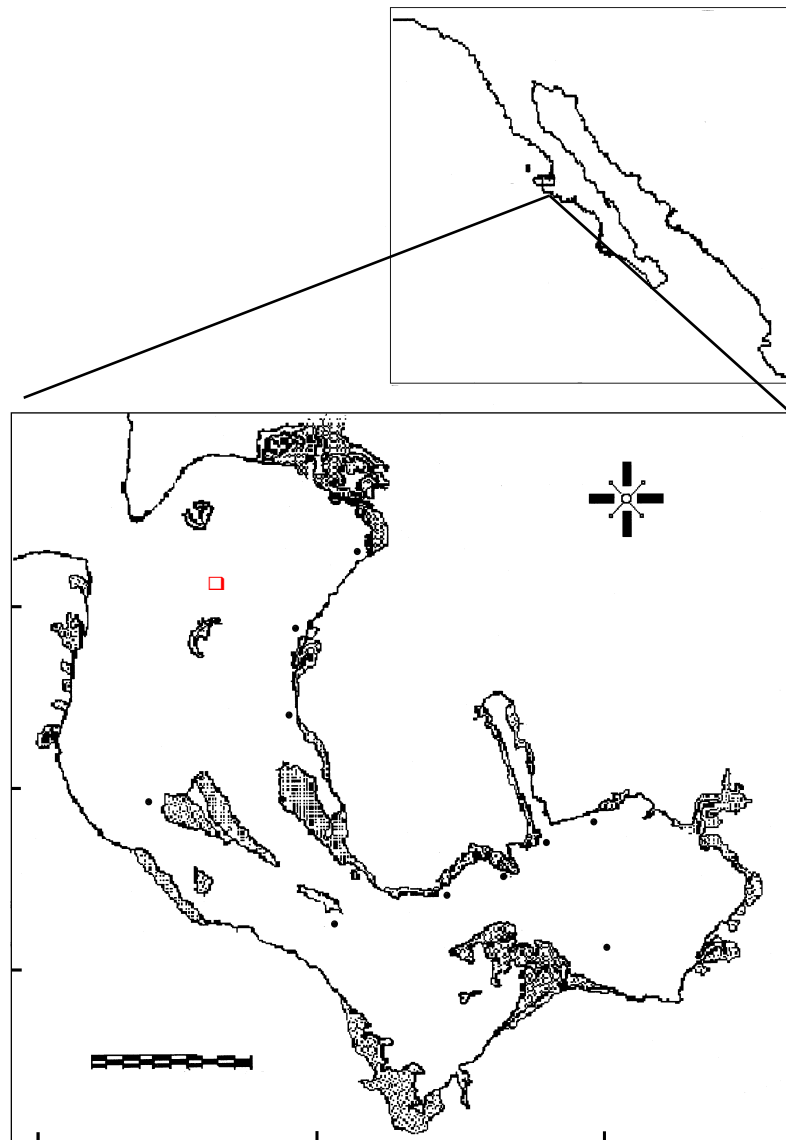


Figura 1.- Localización geográfica de la Laguna Ojo de Liebre en Baja California Sur, México.

Bahía Juncalito

Bahía Juncalito se encuentra localizada entre los 27° 55'- 28° 05' N y 114° 03'- 114° 10' O (Fig. 2) dentro del Golfo de California, donde predomina un ambiente caracterizado por grandes cambios de temperatura, diurnos y estacionales, alta evaporación e intensa radiación solar (Franco, 1997). Los efectos climáticos del océano Pacífico sobre el golfo, se ven reducidos fuertemente por una interrumpida cadena montañosa de 13 Km. de alto en la Península de Baja California, dando al golfo un clima más continental que oceánico. Las variaciones de temperatura anual y diurna son grandes, fluctúan estacionalmente entre los 30 y 34 °C en el verano, y entre los 10 y 13 °C durante el invierno. Este amplio intervalo de temperatura, tiene un efecto sobre la flora y la fauna, el cual se ve reflejado en la presencia de especies tropicales, templadas y endémicas, las cuales se localizan principalmente en la parte norte del Golfo de California (Brinton *et al.*, 1986).

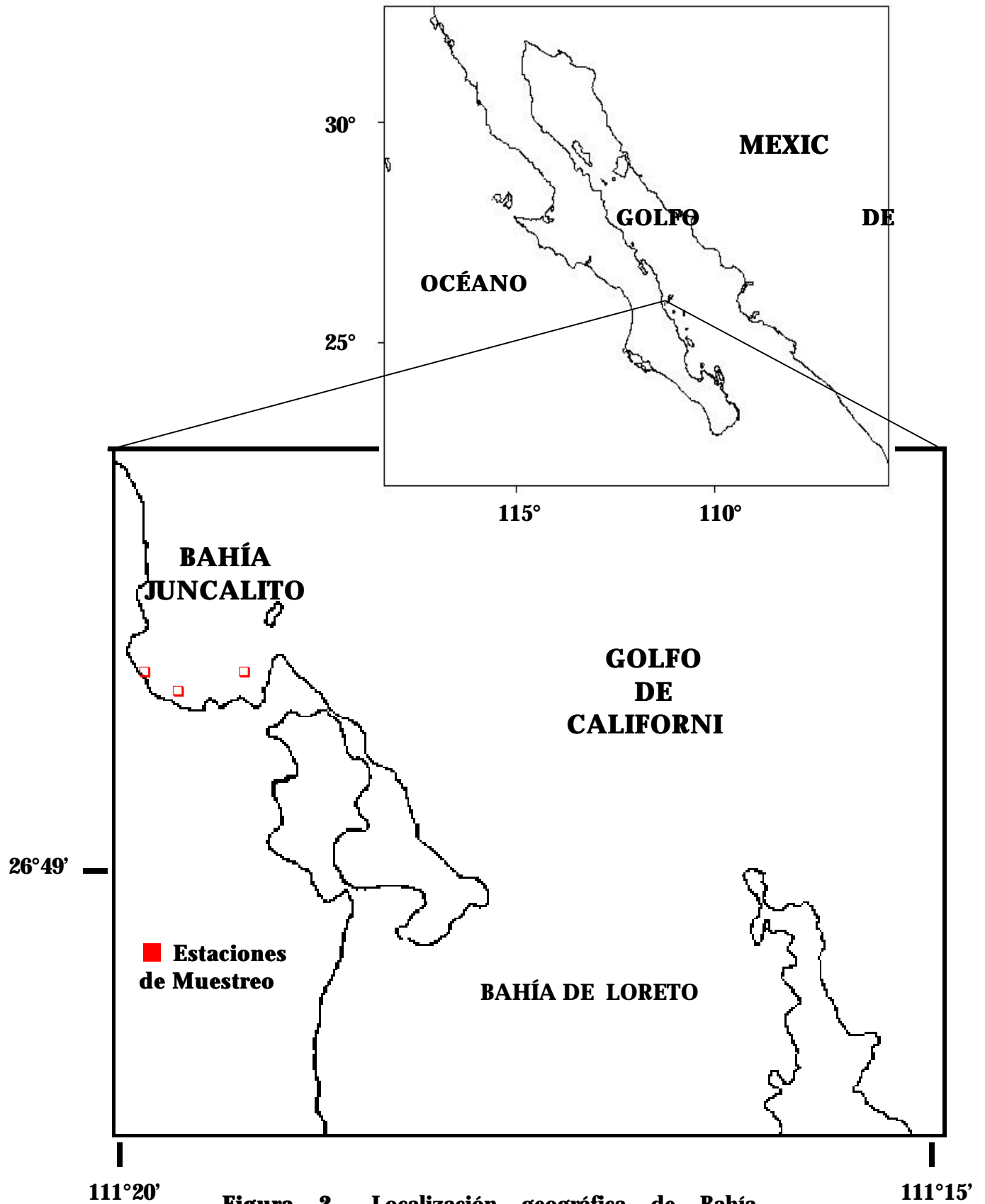


Figura 2.- Localización geográfica de Bahía Juncalito, Baja California Sur, México.

6.2. Recolecta de Organismos.

La recolecta de material biológico se realizó mediante buceo semiautónomo. Durante un ciclo anual (enero-diciembre) se recolectaron al azar 30 ejemplares mensualmente para las dos localidades. En Bahía Juncalito, la recolecta se realizó en 1996 y en la Laguna Ojo de Liebre, durante el 2001. Para cada organismo se registró el peso total, peso de las partes blandas, longitud total y altura de la concha. Adicionalmente se registró la temperatura del agua al momento de cada muestreo.

6.3. Técnica Histológica.

Los pasos a seguir para aplicar la técnica histológica se presentan en la figura 3. Los organismos se fijaron completos en formol neutro al 10% preparado con agua de mar, durante 48 horas. Posteriormente, ya en el laboratorio, se realizó un lavado del fijador con agua corriente durante 24 horas antes de hacer la disección.

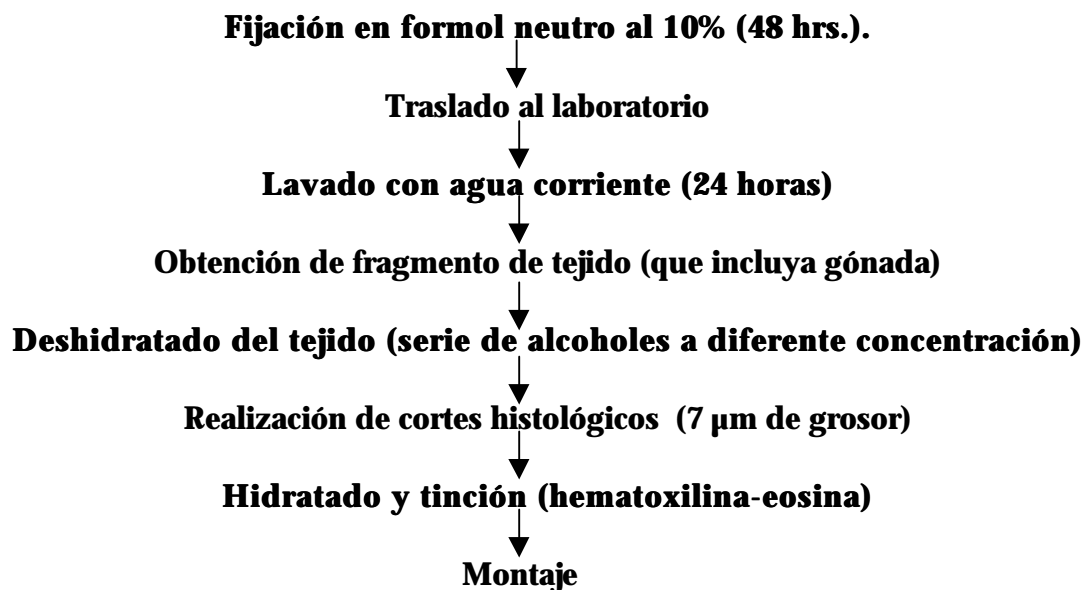


Figura 3.- Pasos a seguir para aplicar la técnica histológica.

Debido a que *M. squalida* no presenta un tipo de gónada discreta (la gónada se infiltra en la masa visceral), fue necesario obtener de cada organismo un fragmento de masa visceral que incluyera gónada. Dicho fragmento, posteriormente se deshidrató en una serie de alcoholes de concentraciones ascendentes y se incluyó en paraplast (Tabla 1).

Tabla 1.- Tiempos de inmersión para el proceso histológico. Abreviaciones: 80, 96 y 100, concentraciones de alcohol (%), h, horas; m, minutos; OH-HeDe, mezcla 1:1 de alcohol-hemo De; HeDe, Hemo De 100%; HeDe-P, Hemo De – Parafina 1:1; I, II, pasos de parafina 100%.

TIEMPO DE INMERSIÓN											
Deshidratación							Aclarado		Inclusión		
80	96 I	96 II	96 III	100 I	100 II	100 III	OH-HeDe	HeDe	HeDe-P	I	II
1 h	1 h	1 h	1 h	1 h	1 h	1 h	15m	15m	30m	1 h	2 h

Los cortes histológicos fueron hechos a 7 μ m de grosor. Una vez obtenidos los cortes, se desparafinaron con Hemo De, se hidrataron y se tiñeron con hematoxilina-eosina (Tabla 2). Finalmente las preparaciones obtenidas se montaron con resina sintética (Humason, 1979).

Tabla 2.- Tiempos de inmersión para el proceso de tinción. Abreviaciones: He De, Hemo De; 70, 96 y 100 concentraciones de alcohol (%); Ag, agua; AgAmo, agua amoniacal; Eo, eosina; m, minutos; OHac, alcohol ácido; s, segundos.

DESPARAFINADO			HIDRATACIÓN				
He De	He De	He De	96 I	96 II	70 I	70 II	Ag
3m	3m	3m	3m	3m	3m	3m	1m

TIEMPO DE INMERSIÓN												
Tinción							Deshidratación					
He	Ag	OHac	Ag	AgAmo	Ag	Eo	96	100	100	Am	Am	Am
8m	1m	1s	5s	2m	1m	30s	4m	3m	4m	3m	3m	3m

6.4. Proporción de sexos.

Se obtuvo mensualmente la proporción de sexos, dividiendo el número total de hembras entre el número total de machos.

Para determinar si existía diferencia 1:1 en la proporción de sexos por mes, se realizaron pruebas de hipótesis asumiendo que la distribución muestral es aproximadamente normal, de acuerdo con el teorema del límite central. El análisis se realizó bajo la hipótesis nula de que existe una proporción 1:1, utilizando el estadístico de prueba χ^2 .

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

Donde:

O = Proporción de hembras y machos observados

E = Proporción de hembras o machos esperado

De acuerdo con Sokal y Rohlf (1979), la regla de decisión se realizó con una confianza del 95%, no aceptando la hipótesis nula cuando el valor de χ^2 calculado fuera mayor a 3.8.

6.5. Caracterización de las fases de desarrollo gonádico.

El desarrollo gonádico se dividió en 5 categorías de acuerdo a sus características morfológicas: Desarrollo, Madurez, Desove, Posdesove e Indiferenciación (García-Domínguez *et al.*, 1998; Villalejo-Fuerte *et al.*, 1996). La caracterización de las fases de desarrollo, se basó en las siguientes consideraciones: tamaño y forma de los folículos y túbulos, grado de desarrollo folicular, presencia de gametos en desarrollo y madurez, presencia de gametos residuales, tamaño de los ovocitos y núcleo, espacios que ocupan los gametos en los folículos, abundancia y cantidad de tejido conjuntivo.

6.6. Determinación del ciclo reproductivo.

Una vez caracterizadas las fases del desarrollo gonádico, se analizaron al microscopio todas las laminillas y se les asignó una fase de desarrollo. Con estos resultados, se calcularon las frecuencias relativas mensuales de cada fase de desarrollo y se elaboraron gráficas de barras.

6.7. Época de reproducción.

Se consideró como época de reproducción al periodo en el que se encontraron los organismos en madurez y desove. La época de reproducción, fue contrastada con la temperatura del agua y las variables cuantitativas de la gametogénesis.

Métodos cuantitativos para la evaluación del ciclo reproductivo

6.8. Índice de madurez.

Como una forma de obtener datos numéricos para poder hacer un análisis cuantitativo del ciclo reproductivo de *M. squalida*, se calculó el índice de madurez (IM) de acuerdo a Heffernan *et. al.* (1989). Mediante este índice, fue posible resaltar numéricamente el estado de madurez o la fase del desarrollo gonádico de cada una de las muestras mensuales. Este procedimiento se realizó utilizando un sistema numérico arbitrario, asignando un valor específico de acuerdo a la fase de desarrollo del organismo; de tal forma que encontramos como valor más bajo dentro de esta escala numérica arbitraria, un valor = 0 que corresponde a los

organismos indiferenciados y en estadio de posdesove; un valor = 1 a los organismos que se encuentren en desove, un valor = 2 a los organismos que se encuentren en fase de desarrollo; y finalmente a los organismos maduros, se les asignó el valor más alto con el número 3.

La medición mensual del IM, finalmente se obtuvo al multiplicar el número de organismos en cada estado de desarrollo gonádico de cada muestra mensual (obtenidas a través de la interpretación al microscopio de los cortes histológicos) por el nivel numérico del estado de desarrollo. Los productos se sumaron entre sí y fueron divididos entre el número total de individuos de la muestra. La relación es expresada como sigue:

$$IM = (nI(1)+nII(2)+nIII(3)+nIV(4)+nV(5))/nt$$

Donde:

IM = Índice de madurez

n = Número de individuos en el estado de desarrollo I, II, III, IV y V

nt = Número total de individuos en la muestra

6.9. Diámetro de ovocitos.

Con el fin de complementar el método histológico, se efectuó un análisis del tamaño promedio de los ovocitos (Grant y Tyler 1983a, b). El método consiste en realizar un seguimiento mensual del crecimiento de las células sexuales

femeninas, para lo cual fue necesario obtener el diámetro de por lo menos 50 ovocitos a partir de imágenes digitalizadas de los cortes histológicos, mediante la utilización del software SCANPRO. Únicamente los ovocitos de forma redondeada, presencia clara de núcleo y nucleolos fueron utilizados; esto con la finalidad de asegurar el diámetro máximo en cada uno de los casos. Individuos con pocos ovocitos medibles y mucha fagocitosis (organismos en posdesove) no fueron considerados, usando el criterio de Grant y Tyler (1983a, b) por lo que sólo se utilizaron organismos en desarrollo, madurez y desove. Se calculó la media por mes tanto en los individuos como en las muestras.

6.10. Porcentaje de área folicular.

El porcentaje de área folicular (PAF) es un índice que refleja el área ocupada por los folículos en la gónada en relación al área total de los tejidos somáticos (área máxima disponible para el desarrollo gonádico en cortes histológicos) (Barón *et al.* 2001). Siguiendo el criterio de Grant y Tyler (1983a, b) sólo se utilizaron organismos en desarrollo, madurez y desove. El PAF, fue estimado de la siguiente manera:

$$\text{PAF} = (\text{Área intrafolicular} \times 100 / \text{Área total})$$

$$\text{Donde: Área total} = \text{Área interfolicular} + \text{Área intrafolicular}$$

6.11. Análisis estadísticos.

Para verificar si existen diferencias significativas entre meses y entre poblaciones, se aplicaron análisis de variancia, seguidos por una prueba de comparación de medias a posteriori de Tukey. Para verificar si el ciclo reproductivo de *M. squalida* esta relacionado con la temperatura, se aplicaron análisis de correlación no-paramétrica de Spearman (Dowdy y Wearden, 1991) entre la temperatura de cada localidad y las variables cuantitativas de la madurez gonadal.

7. RESULTADOS

7.1. Descripción histológica de las fases de desarrollo gónadico.

- **Índiferenciado:** El tejido conjuntivo ocupa más del 50% de la gónada. Ésta etapa se caracteriza por la ausencia de gametos (no hay actividad sexual), se observan algunos folículos aislados (Fig. 4).

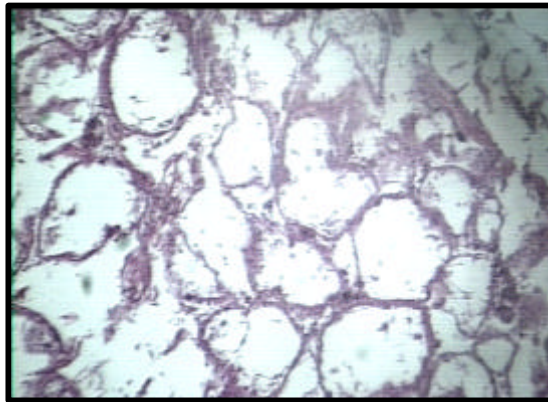


Figura 4.- Gónada indiferenciada tomada a un aumento de 10 X.

- **Desarrollo:** La cantidad de tejido conjuntivo disminuye a medida que los folículos se van llenando de gametos (proliferación de gametos). Las células germinales se encuentran en la periferia del folículo. En las hembras los gametos inmaduros se encuentran adheridos a la pared del folículo y algunos tienen forma de pera, éstas células se caracterizan por la ausencia de vitelo en el citoplasma (Fig. 5a). En los machos los gametos inmaduros compuestos principalmente por espermatogonias y espermatocitos, se encuentran en las paredes del folículo y conforme maduran van ocupando la luz del folículo (Fig. 5b).

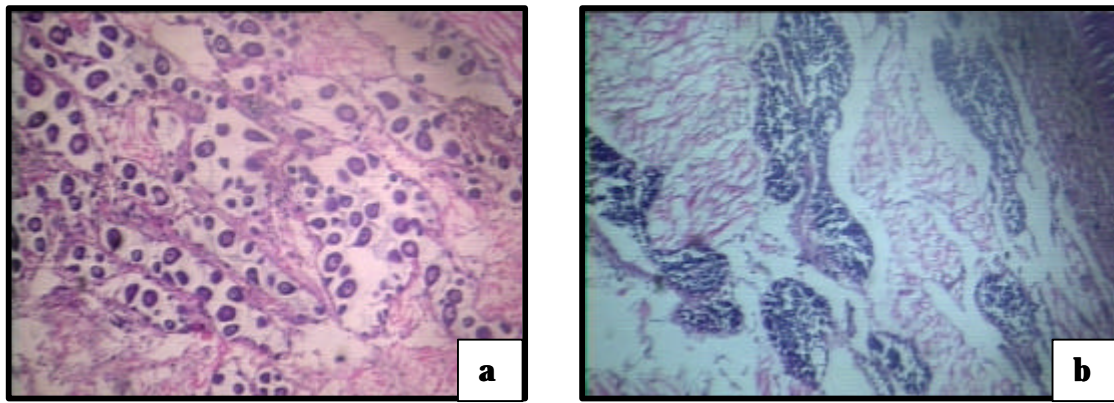


Figura 5.- Gónadas en fase de desarrollo: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 X.

- **Madurez:** El tejido conjuntivo es poco evidente, la luz del folículo se encuentra llena de células sexuales maduras. En las hembras los folículos se encuentran llenos de ovocitos maduros, que por su abundancia adquieren una forma irregular, en su citoplasma se encuentran cúmulos vitelinos y en su núcleo se observan de uno a tres nucleolos. (Fig. 6a). En los machos los espermatozoides se localizan en el centro y hay muy poca actividad espermatogénica (Fig. 6b).

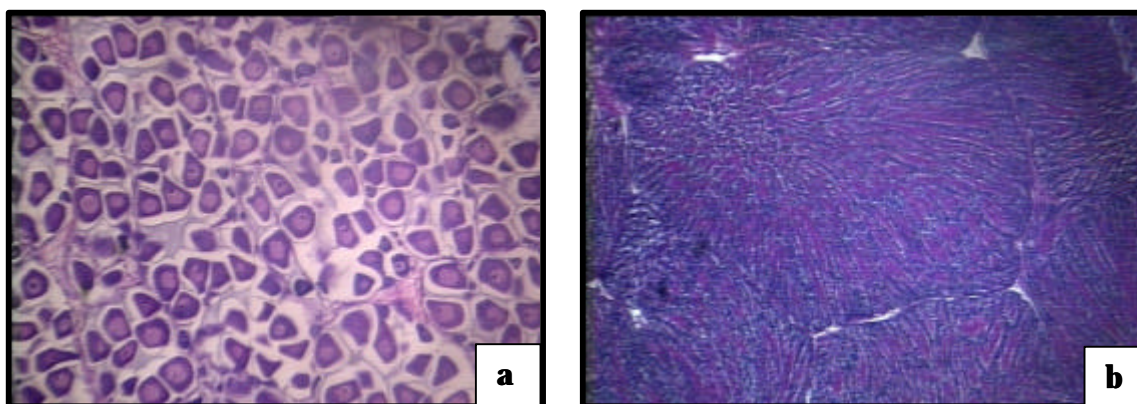


Figura 6.- Gónadas en fase de madurez: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 X.

- **Desove:** El tejido conjuntivo vuelve a observarse ocupando parte del tejido gonádico. Organismos que han iniciado la evacuación de gametos, los folículos se observan más o menos vacías dependiendo de lo avanzado del desove y algunas de sus paredes se encuentran rotas (Fig. 7a y 7b).

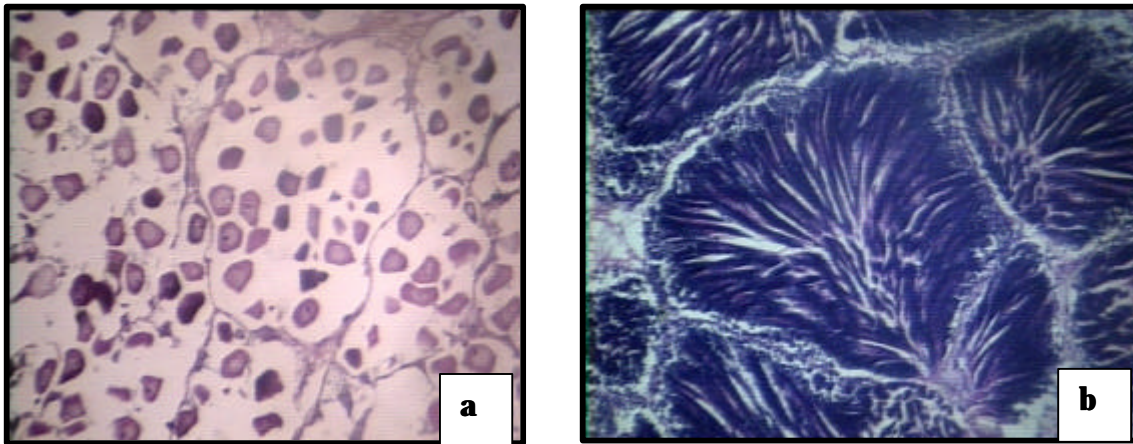


Figura 7.- Gónadas en fase de desove: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 X.

- **Posdesove** (la mayoría de los gametos remanentes se encuentran maduros): en esta fase, la gónada ha evacuado progresivamente los gametos restantes y se observa una invasión de amebocitos que fagocitan los escasos gametos residuales. El tejido conjuntivo es más abundante y comienza a ocupar más del 50 % de la gónada (Fig. 8a y 8b).

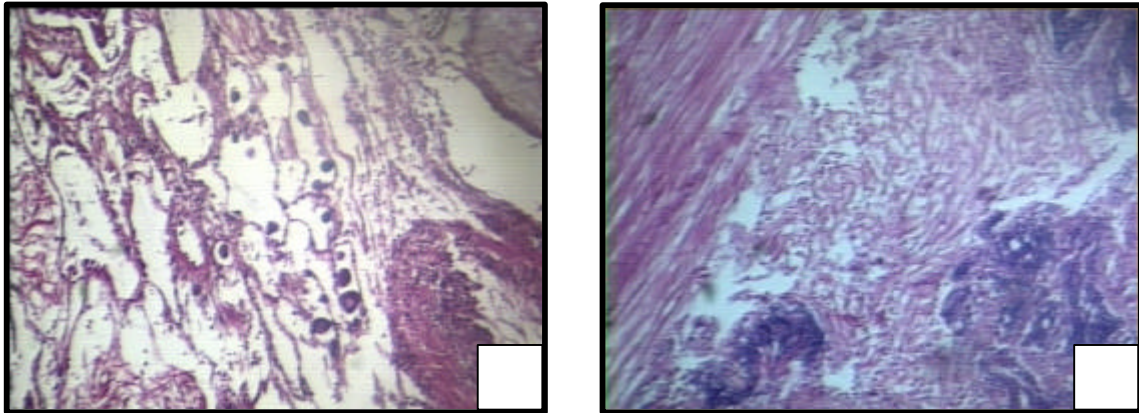


Figura 8.- Gónadas en fase de Posdesove: a) hembras, b) machos. Tomadas a un aumento de 10 X.

7.2. Hermafroditismo.

En ambas localidades, la observación microscópica de las gónadas reveló la presencia de hermafroditismo (Fig. 9). En la Laguna Ojo de Liebre, se observaron un total de 10 organismos hermafroditas (2.61%), mientras que en Bahía Juncalito únicamente se encontró a 1 organismo hermafrodita, que correspondió al 0.25% del total de la población muestreada.

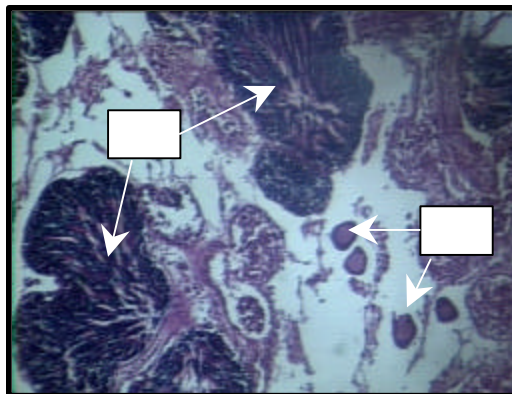


Figura 9.- Gónada de un organismo hermafrodita. EZ, espermatozoides; OV,

ovocitos. Tomada a un aumento de 10 x.

7.3. Proporción de sexos por mes.

Laguna Ojo de Liebre

Para esta localidad fueron considerados un total de 283 ejemplares, de los cuales 127 fueron hembras (44.8%) y 156 fueron machos (55.1%); las características morfométricas de los organismos se presentan en la tabla 3.

Tabla 3.- Variables morfométricas de *M. squalida* de la Laguna Ojo de Liebre.

VARIABLE	RANGOS		MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
	Mínimo	Máximo		
Altura (mm)	51	100	72.8	7.74
Longitud (mm)	64	121	91.3	9.5
Peso total (g)	47	502.1	141.6	49.1
Peso sin concha (g)	9.3	58.1	30.5	9.5

La proporción de sexos total fue de 0.82H:1M. Al aplicar el estadístico de prueba χ^2 , no se presentaron diferencias significativas en la proporción sexual total ($P > 0.05$), a excepción de los meses de agosto ($\chi^2 = 3.9$), septiembre ($\chi^2 = 9.0$) y octubre ($\chi^2 = 5.4$), donde sí se observan diferencias significativas ($P < 0.05$). En la tabla 4, se muestran las frecuencias mensuales tanto para hembras como para machos; así como el número total de organismos para esa localidad, y su correspondiente valor de χ^2 (Tabla 4).

Tabla 4. Proporción mensual de sexos de *M. squalida* de la Laguna Ojo de Liebre.

MES	HEMBRAS	MACHOS	TOTAL	χ^2	PROPORCIÓN Hembra:Macho
Enero	13	9	22	0.73	1.44:1
Febrero	15	17	32	0.13	0.88:1
Marzo	9	14	23	1.09	0.64:1
Abril	17	12	29	0.86	1.42:1
Mayo	18	11	29	1.69	1.64:1
Junio	15	13	28	0.14	1.15:1
Julio	13	16	29	0.31	0.81:1
Agosto	10	21	31	3.90	0.48:1
Septiembre	0	9	9	9.00	0.11:1
Octubre	1	8	9	5.44	0.13:1
Noviembre	1	5	6	2.67	0.20:1
Diciembre	3	3	6	0.00	1.00:1
TOTAL	115	138	253	2.09	0.83:1

Bahía Juncalito

Para Bahía Juncalito el número total de organismos considerados fue de 384 ejemplares; de los cuales 195 fueron hembras (50.8%) y 189 fueron machos (49.2%), las características morfométricas de los organismos se presentan en la tabla 5.

Tabla 5.- Variables morfométricas de *M. squalida* de Bahía Juncalito.

VARIABLE	RANGOS		MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
	Mínimo	Máximo		
Altura (mm)	39.7	74.8	55.6	5.9
Longitud (mm)	47.8	89.5	66.4	6.5
Peso total (g)	30	205.3	85.7	30.1
Peso sin concha (g)	4.6	51.7	17.5	8.4

La proporción de sexos total fue de 1.03H:1M. Al aplicar el estadístico de prueba χ^2 , no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre la proporción total de hembras y machos, excepto para el mes de diciembre ($\chi^2 = 5.14$) (Tabla 6).

Tabla 6.- Proporción mensual de sexos de *M. squalida* de Bahía Juncalito.

MES	HEMBRAS	MACHOS	TOTAL	χ^2	PROPORCIÓN Hembra:Macho
Enero	19	12	31	1.58	1.58:1
Febrero	8	16	24	2.67	0.50:1
Marzo	15	15	30	0.00	1.00 :1
Abril	16	14	30	0.13	1.14 :1
Mayo	10	9	19	0.05	1.11 :1
Junio	10	20	30	3.33	0.50 :1
Julio	15	14	29	0.03	1.07 :1
Agosto	15	15	30	0.00	1.00 :1
Septiembre	12	17	29	0.86	0.71 :1
Octubre	7	13	20	1.80	0.54 :1
Noviembre	21	12	33	2.45	1.75 :1
Diciembre	20	8	28	5.14	2.50 :1
TOTAL	168	165	333	0.03	1.02:1

7.4. Proporción de sexos por clase de talla.

Para determinar si el hermafroditismo es una condición propia de la especie, se realizó un análisis de la proporción de sexos por clase de talla, para ver si existía alguna relación entre las proporciones de hembras y machos, que nos pudieran dar algún indicio de reversión sexual (protoginia o protandria), o simplemente pudieran considerarse como casos aislados.

Laguna Ojo de Liebre

Para esta localidad, la proporción de hembras y machos se comportó de manera constante dentro de las diferentes tallas, manteniendo una proporción aproximada 1M:1H. En términos generales, no se encontraron diferencias significativas entre las tallas ($P > 0.05$), excepto en la talla de 80-85 mm ($\chi^2 = 7.08$), (Tabla 7).

Tabla 7.- Proporción de sexos por clase de talla de *M. squalida* de la Laguna Ojo de Liebre.

LONGITUD (mm)	HEMBRAS	MACHOS	TOTAL	χ^2	PROPORCIÓN Hembra:Macho
60-65	0	1	1	1.00	0.00
65-70	1	2	3	0.33	0.50
70-75	2	5	7	1.29	0.40
75-80	7	12	19	1.32	0.58
80-85	16	35	51	7.08	0.46
85-90	23	35	58	2.48	0.66
90-95	31	27	58	0.28	1.15
95-100	17	17	34	0.00	1.00
100-105	21	16	37	0.68	1.31
105-110	6	5	11	0.09	1.20
110-115	2	1	3	0.33	2.00
115-120	1	0	1	1.00	0.00
TOTAL	127	156	283	2.97	0.81

Bahía Juncalito

Para Bahía Juncalito la proporción sexual no muestra diferencias significativas dentro de las diferentes tallas ($P > 0.05$), y se mantiene una proporción aproximada 1M: 1H. (Tabla 8).

Tabla 8.- Proporción de sexos por clase de talla de *M. squalida* de Bahía Juncalito.

LONGITUD (mm)	HEMBRAS	MACHOS	TOTAL	χ^2	PROPORCIÓN Hembra:Macho
45-50	1	0	1	1.00	0.00
50-55	7	11	18	0.89	0.64
55-60	17	21	38	0.42	0.81
60-65	33	47	80	2.45	0.70
65-70	65	66	131	0.01	0.98
70-75	55	37	92	3.52	1.49
75-80	12	6	18	2.00	2.00
80-85	3	0	3	3.00	0.00
85-90	2	1	3	0.33	2.00
TOTAL	195	189	384	0.09	1.03

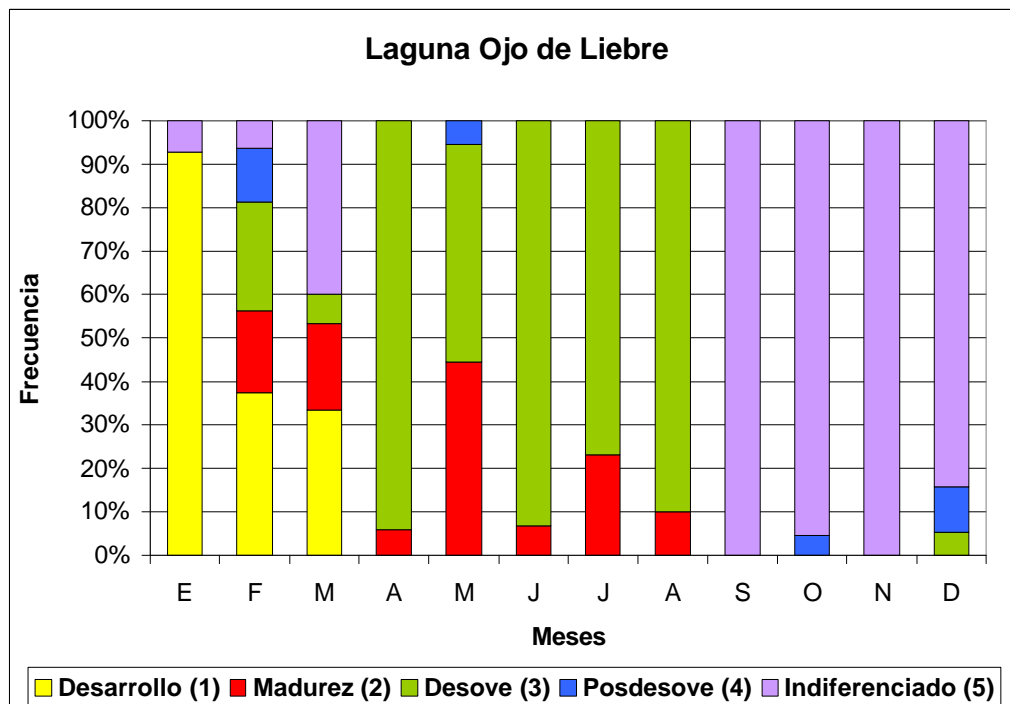
7.5. Ciclo reproductivo.

El ciclo reproductivo de *M. squalida* siguió una secuencia que involucró a varios procesos, dentro de los que podemos destacar como los más importantes; a la gametogénesis, el crecimiento progresivo de la gónada, la maduración de los gametos y la liberación de los mismos.

Laguna Ojo de Liebre

Hembras

En esta localidad, se observó una estacionalidad marcada en la actividad reproductiva de los organismos durante el ciclo anual de muestreo. La fase de desarrollo se presentó de enero a marzo; el mes de enero destaca como el de mayor actividad registrada (92.8%). Los organismos maduros, por su parte, estuvieron presentes de febrero a agosto, al igual que los organismos en fase de desove, con casi el 100% de organismos desovantes en abril, junio y agosto. La fase de posdesove se presentó en febrero, mayo, octubre y diciembre. De enero a marzo y de septiembre a diciembre se encontraron organismos indiferenciados y se presentó una marcada interrupción en el proceso reproductivo, con el 100 % de organismos en fase de indiferenciación en septiembre y noviembre (Fig.10).



INCRUSTARFigura 10.- Ciclo reproductivo de hembras de *M. squalida* en la

Laguna Ojo de Liebre, B.C.S.

Machos

En el caso de los machos de esta localidad al igual que en hembras, hubo una marcada estacionalidad en la actividad reproductiva a lo largo del periodo de muestreo. La fase de desarrollo se presentó de enero a marzo y en agosto. Los organismos maduros se encontraron durante los meses de febrero, marzo y de mayo a agosto. La fase de desove se presentó de abril a octubre y en diciembre. Los organismos en posdesove se presentaron de septiembre a diciembre. Finalmente los organismos indiferenciados, se presentaron también de enero a marzo y de septiembre a diciembre (Fig. 11).

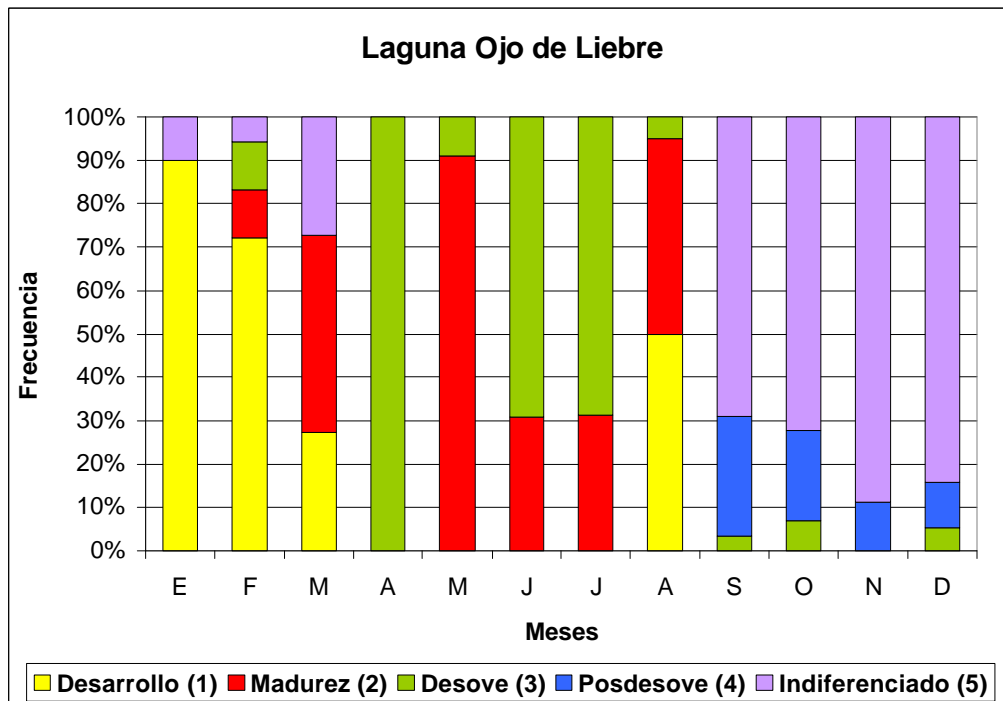
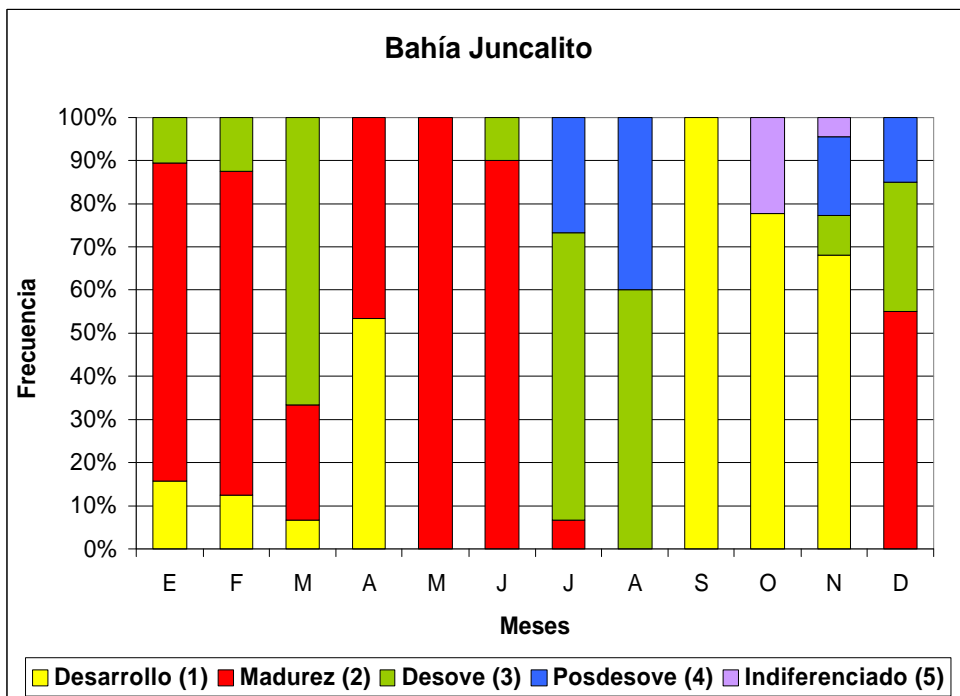


Figura 11.- Ciclo reproductivo de machos de *M. squalida* en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S.

Bahía Juncalito

Hembras

Para Bahía Juncalito, la actividad reproductiva fue continua (aunque en diferentes proporciones), a lo largo de todo el año. La fase de desarrollo estuvo presente en dos periodos principales a lo largo del año; el primero de enero a abril; mientras que el segundo lo encontramos de septiembre a noviembre. La frecuencia de organismos maduros mostró un comportamiento muy similar, pues se presentó en el periodo de enero a julio y en diciembre, con el 100% de organismos maduros en mayo. Los organismos en desove estuvieron intercalados en tres periodos, el primero fue de enero a marzo, el segundo de junio a agosto y el último de noviembre a diciembre. Para esta localidad la fase de indiferenciación fue baja a lo largo del año, con una frecuencia máxima en octubre (22.2%) (Fig. 12).



INCRUSTAR

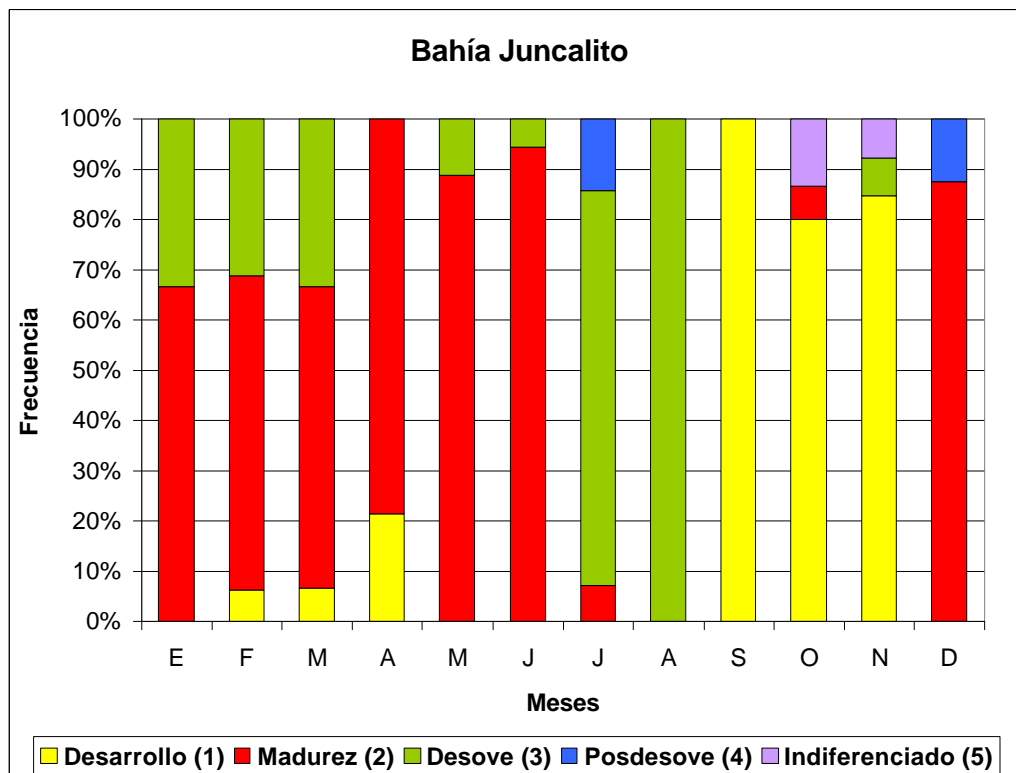
Figura 12.- Ciclo reproductivo de hembras de *M. squalida* en Bahía Juncalito,

Golfo de California.

Machos

En Bahía Juncalito la actividad reproductiva en los machos fue continua al igual que en las hembras, sin un patrón estacional. La proporción de organismos indiferenciados fue mínima durante el ciclo anual y solo se presentó en dos meses, octubre y noviembre (13% y 7.7%, respectivamente). La fase de desarrollo se presentó de febrero a abril y de septiembre a noviembre. La fase de madurez se presentó de enero a junio y octubre y diciembre. La fase de desove se presentó de julio a agosto y de septiembre a noviembre. La fase de posdesove se presentó de julio y diciembre (Fig. 13).

INCRUSTAR



**Figura 13.- Ciclo reproductivo de machos de *M. squalida* en Bahía Juncalito,
Golfo de California.**

7.6. Época de reproducción.

Laguna Ojo de Liebre

En la Laguna Ojo de Liebre se presentó una época de reproducción bien marcada que va de abril a agosto.

Bahía Juncalito

En Bahía Juncalito la actividad reproductiva se mantuvo durante todo el año pero se presentaron tres periodos principales de desove en marzo, julio y agosto.

7.7. Temperatura.

Se observó una diferencia de temperatura entre localidades de aproximadamente 5 °C, la cual se mantuvo más o menos constante a lo largo de los doce meses de muestreo (Fig. 14).

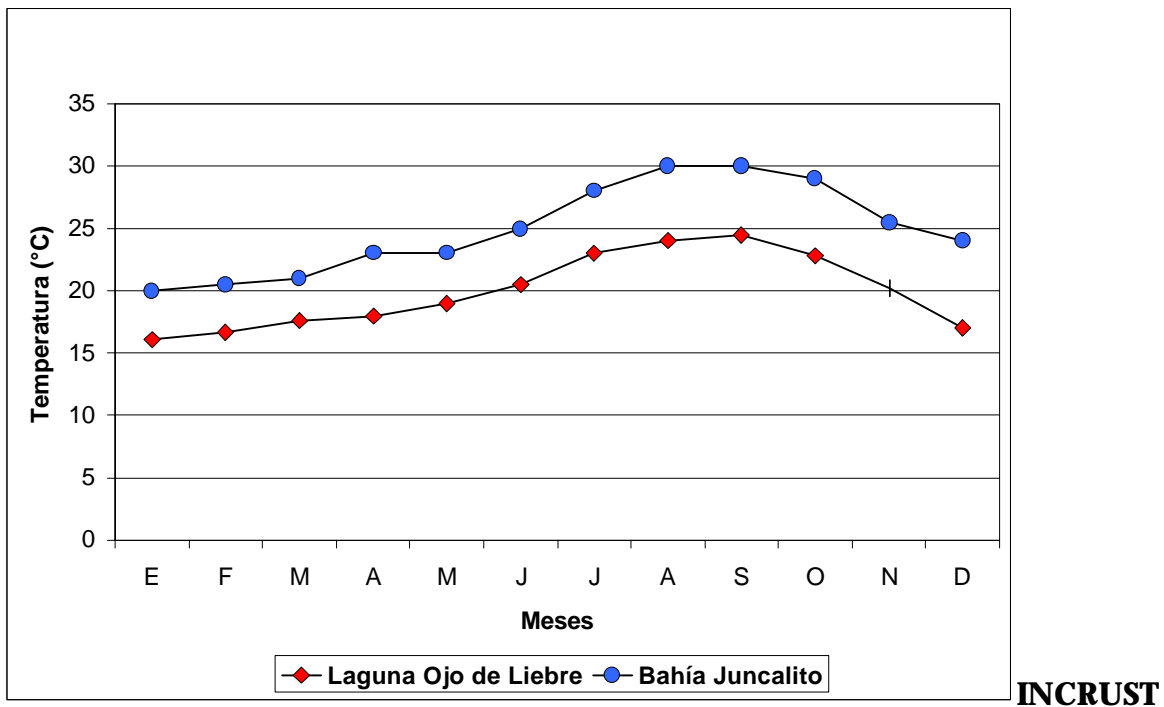
Laguna Ojo de Liebre

El comportamiento de la temperatura en la Laguna Ojo de Liebre fue estacional. La temperatura mínima (16 °C), se registro en diciembre, y la temperatura máxima (24.5 °C) en septiembre (Fig.14).

Bahía Juncalito

En Bahía Juncalito el comportamiento de la temperatura también fue estacional. La temperatura mínima registrada fue de 20 °C en enero y la máxima

de 30 °C en agosto y septiembre.



AR

Figura 14.- Variación de la temperatura registrada en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y Bahía Juncalito, Golfo de California.

Análisis cuantitativo del proceso gametogénico

7.8. Índice de madurez.

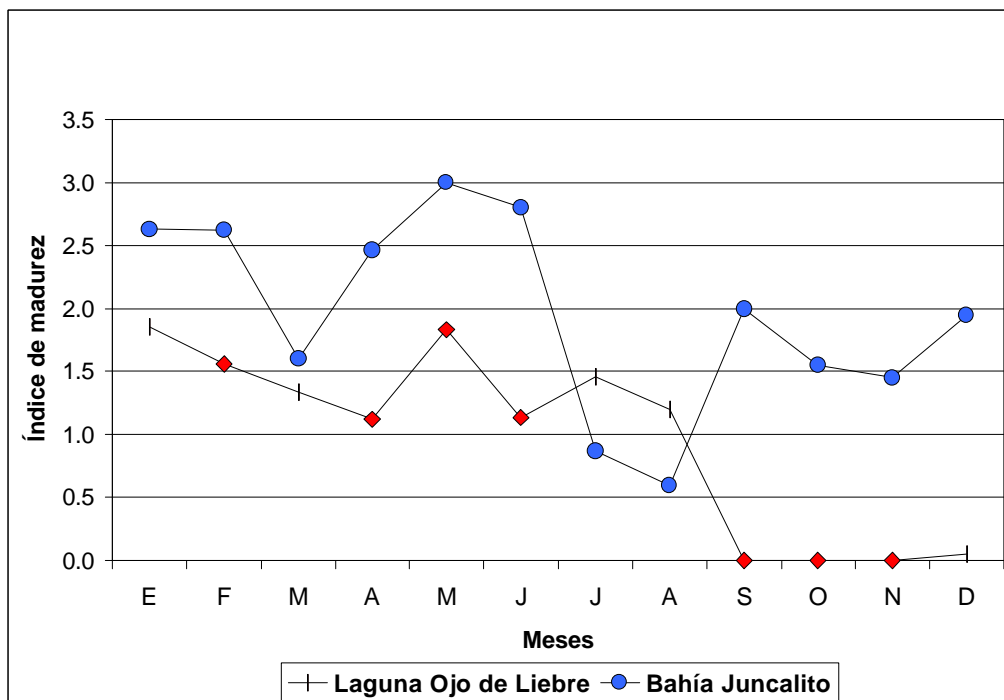
Laguna Ojo de Liebre

En la Laguna Ojo de Liebre se observa una estacionalidad marcada en la variación de los valores del IM. Denotando un periodo de actividad reproductiva entre enero y agosto con valores de IM que van de 1.1 a 1.8 en hembras (Fig. 14) y de 0.7 a 2.8 en machos (Fig. 15), y un periodo de inactividad reproductiva de septiembre a diciembre con valores de IM que van de 0.0 a 0.05 en hembras (Fig.

15) y de 0.0 a 0.07 en machos (Fig. 16).

Bahía Juncalito

En Bahía Juncalito la variación de los valores del IM muestra una actividad reproductiva continua durante el ciclo anual. Con un pico máximo para hembras en mayo (IM = 3), mientras que el valor más bajo se registró en agosto (IM= 0.60) (Fig. 15). En machos se encontró el pico máximo en junio con un valor de 2.89, mientras que el mínimo se registró en diciembre con un valor de 0.87 (Fig. 16).



INCRUSTAR Figura 15.- Variación del índice de madurez de hembras en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S y en Bahía Juncalito, Golfo de California.

INCRUSTAR

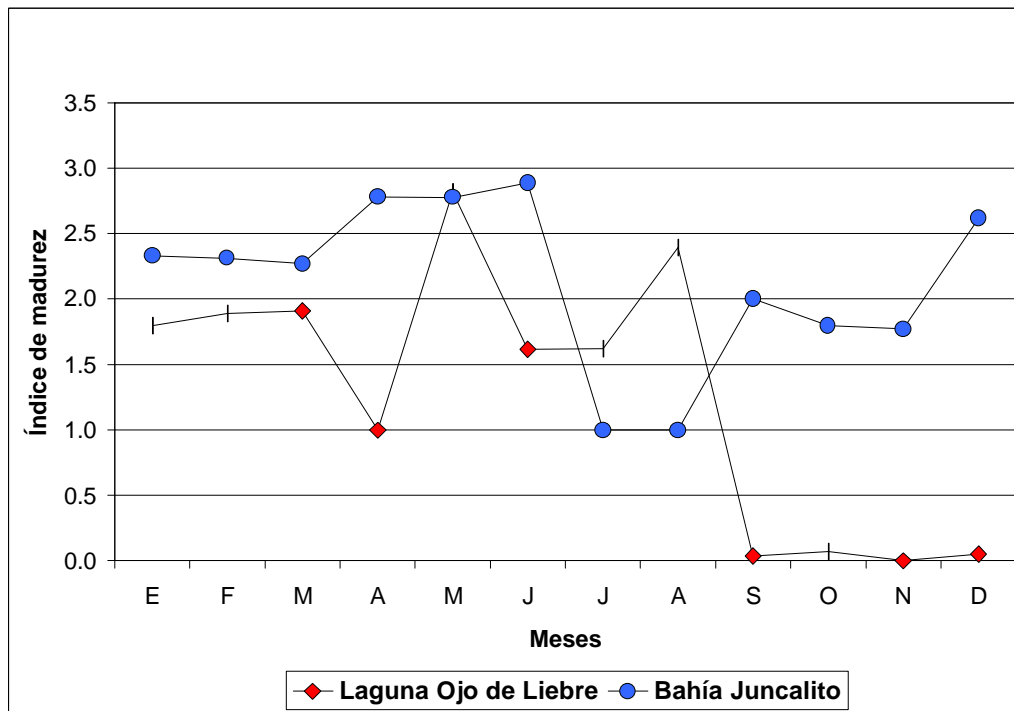


Figura 16.- Índice de madurez de machos en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y Bahía Juncalito, Golfo de California.

7.9. Diámetro de Ovocitos.

Laguna Ojo de Liebre

El número total de ovocitos considerados para esta localidad fue de 6431, medidos a partir de 211 imágenes digitalizadas. El diámetro máximo de los ovocitos se presentó en el mes de julio (52 μm); mientras que el valor más bajo se registró en el mes de enero (31 μm) (Fig. 17).

Bahía Juncalito

El número total de ovocitos considerados para esta localidad fue de 4328, medidos a partir de 164 imágenes digitalizadas. Los valores máximos y mínimos registrados fueron de 40 μm en abril y de 25 μm en noviembre (Fig. 17).

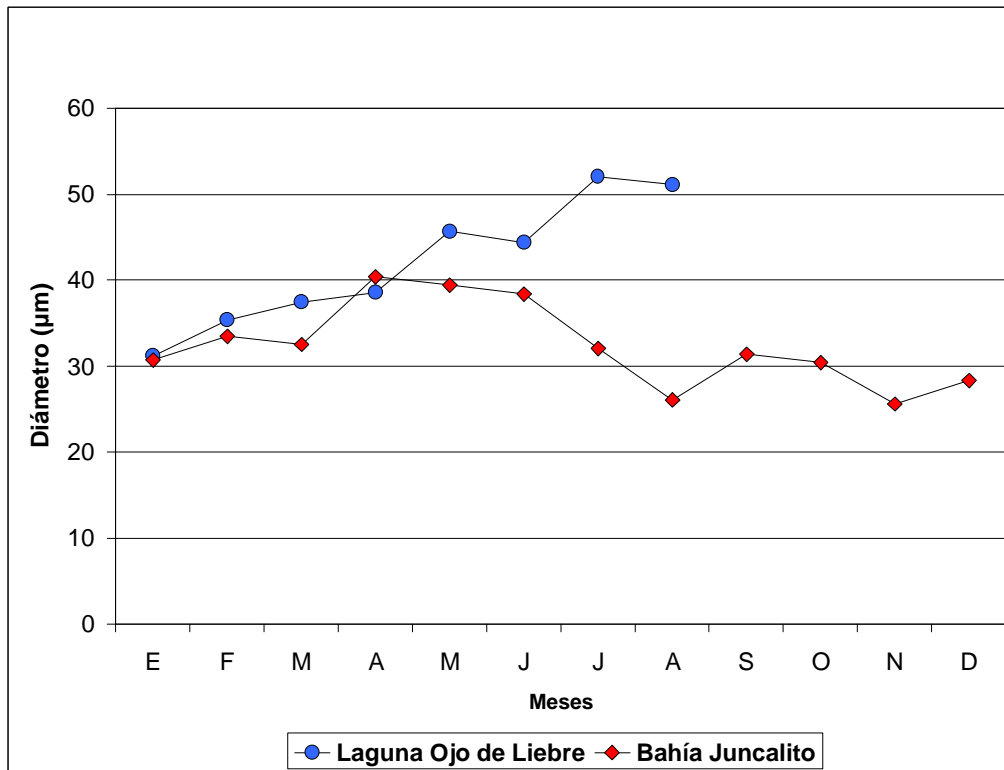


Figura 17.- Variación del diámetro promedio de ovocitos en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y en Bahía Juncalito, Golfo de California.

El análisis de ANOVA, computado independientemente para cada sexo, y localidad, indica que existe una diferencia ($P < 0.05$) estacional en los organismos capturados en la laguna Ojo de Liebre. La prueba de Tukey muestra dos grupos bien definidos: el primero de enero-abril y octubre-diciembre (meses fríos), el

segundo grupo de mayo a septiembre (meses cálidos). En el caso de los organismos de Bahía Juncalito, el análisis indica que hay diferencias significativas ($P < 0.05$) a lo largo de todo el periodo de estudio, sin una tendencia clara.

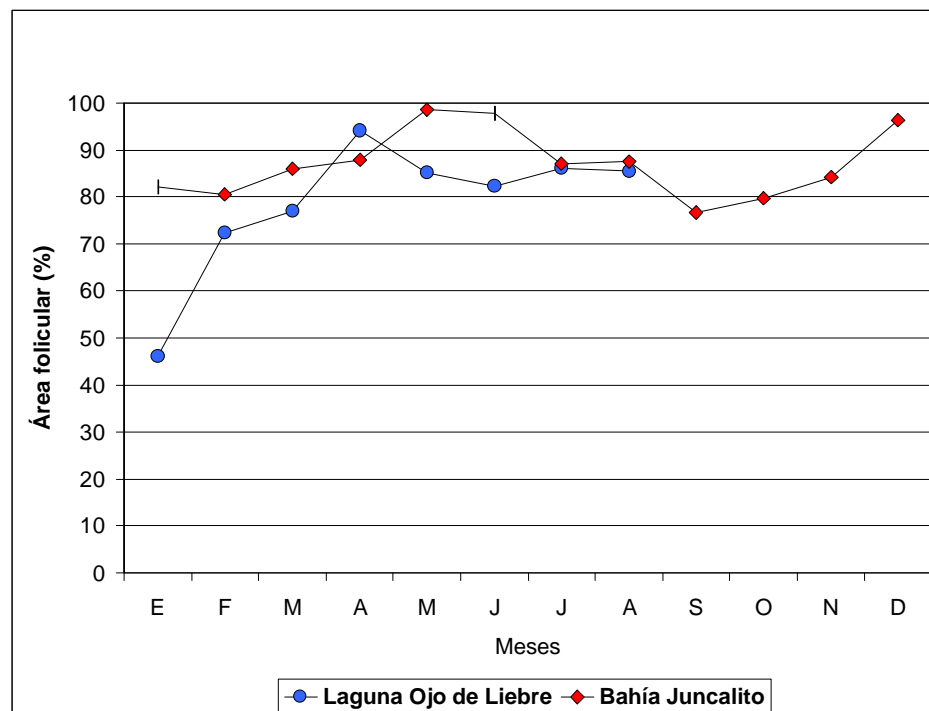
7.10. Porcentaje de área folicular INCRUSTAR INCRUSTAR.

Laguna Ojo de Liebre

El valor máximo de PAF registrado para esta localidad fue de 94.1% en abril; mientras que su valor mínimo se registró en enero con un 46.2%. (Fig. 18).

Bahía Juncalito

El valor máximo se registro en el mes de mayo (98.6%); mientras que el valor mínimo se ubicó en septiembre (76.7%) (Fig. 18).



INCRUSTAR INCRUSTAR Figura 18.- Variación del porcentaje de área folicular en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y en Bahía Juncalito, Golfo de California.

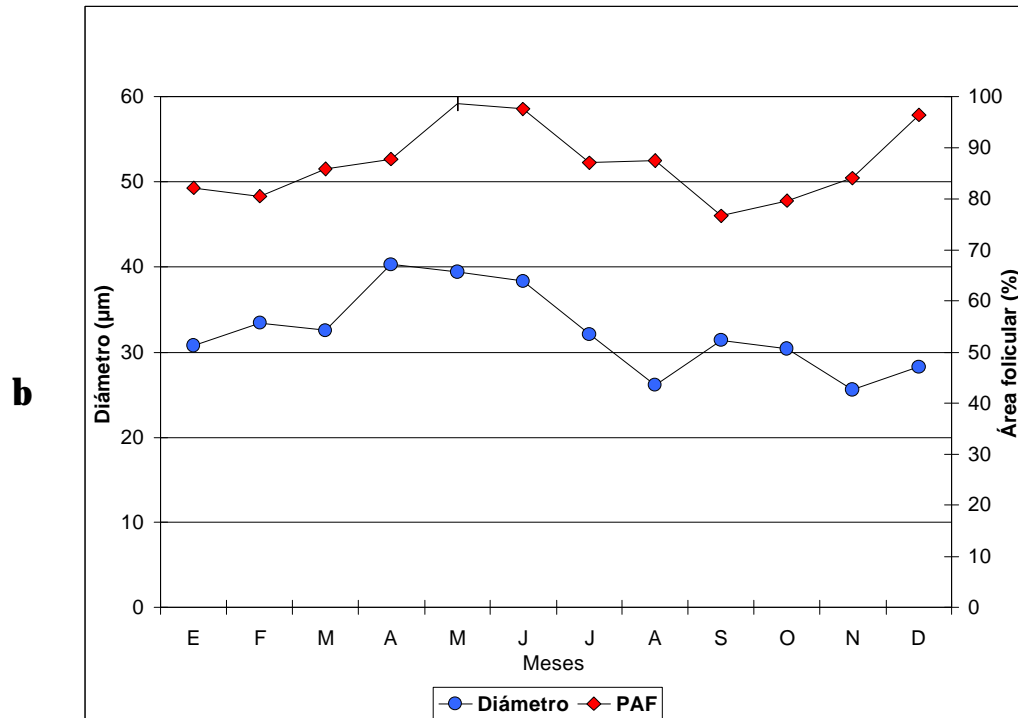
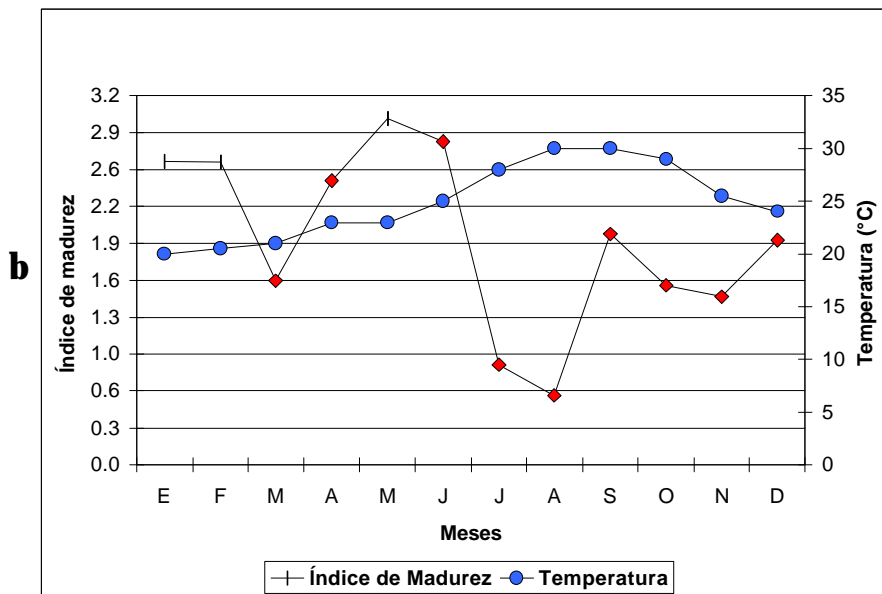
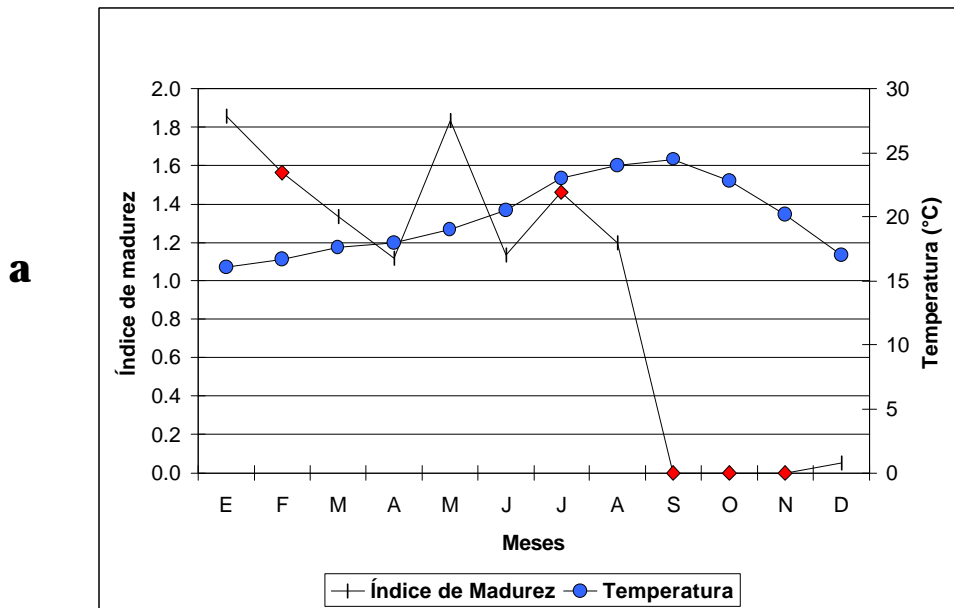


Figura 19.- Diámetro de ovocitos vs. Porcentaje de área folicular en a) Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y b) Bahía Juncalito, Golfo de California.

A pesar de no haber encontrado una correlación estadísticamente significativa entre el índice de madurez y la temperatura del agua, gráficamente se observa que el índice de madurez sigue una tendencia inversa con la temperatura del agua en ambas localidades, de tal forma que cuando se presentaron las temperaturas más bajas se registran los índices de madurez más altos (Figs. 20a y 20b).



INCRUSTAR

INCRUSTAR Figura 20.- Comparación de la variación del índice de madurez y la temperatura del agua en a) Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y b) Bahía Juncalito, Golfo de California.

INCRUSTARINCRUSTARINCRUSTAR8. DISCUSIÓN

En este estudio tanto la oogénesis como la espermatogénesis fueron analizadas usando un esquema de 5 fases de desarrollo, las cuales describen adecuadamente las variaciones de desarrollo en la anatomía microscópica del tejido gonádico. La caracterización histológica de las fases del desarrollo gonádico en su anatomía microscópica no difirió de la realizada anteriormente por Villalejo-Fuerte *et al.* (2000) para esta especie. Es importante mencionar que en el material histológico examinado para este estudio, se contó con la presencia de organismos adultos indiferenciados en ambas localidades, lo cual indica de alguna manera, que los adultos en determinadas épocas reabsorben el material reproductivo residual.

El cambio de sexo es una característica común en los moluscos (Coe, 1945). La clase Pelecypoda presenta una gran variación en la expresión de su sexualidad y ésta va desde especies estrictamente gonocóricas hasta las que son invariablemente hermafroditas funcionales (Sastry, 1979; Delgado y Pérez-Camacho, 2002). *M. squalida* es una especie que ha sido considerada gonocórica (Villalejo-Fuerte *et al.*, 2000). En este estudio el análisis de la proporción de sexos por clase de talla no muestra evidencias de cambio de sexo (bimodalidad en la distribución de tallas con respecto al sexo). Sin embargo, en ambas localidades la observación microscópica de las gónadas reveló la presencia de hermafroditismo aunque en un bajo porcentaje (menos de 3%). Los resultados antes mencionados

corroboran que *M. squalida* es una especie gonocórica, pero que presenta hermafroditismo casual, condición que no había sido reportada para esta especie. El hermafroditismo casual es un fenómeno muy poco frecuente pero que ha sido reportado en la literatura para otras especies de bivalvos gonocóricos como *Mytilus galloprovincialis* (Lubet, 1959); *M. edulis* (Sugiura, 1962); *Atrina seminuda* (Giese y Pearse, 1974); *Mya arenaria* (Brousseau, 1987) y *Ruditapes decussatus* (Delgado y Pérez, 2002). Coe (1945) menciona que la alteración en el comportamiento sexual puede ser causada por un “accidente” o modo anormal de desarrollo embriogénico, resultado de la falla del mecanismo hereditario de diferenciación sexual. Sin embargo, la influencia del medio ambiente es ahora reconocida como uno de los más importantes factores que controlan la diferenciación sexual de las células germinales (Saucedo *et al.*, 2002). No obstante, este tópico no está totalmente aclarado y son necesarios más estudios.

Por otra parte, la proporción sexual total en ambas localidades no fue significativamente diferente de la proporción esperada de 1:1. En la Laguna Ojo de Liebre la proporción total fue de 0.82 H: 1M, mientras que para Bahía Juncalito, la proporción de sexos fue de 1.03H:1M. Estos resultados concuerdan con los obtenidos para la misma especie en Bahía Concepción, B.C.S por Villalejo-Fuerte *et al.*, (1996 b). Frecuencias similares de proporción sexual han sido reportadas para otros bivalvos como *Dosinia ponderosa* (Norton, 1947; Moor y López, 1970; Baqueiro y Stuardo, 1977), *Chione fructifraga* (Martínez-Córdova, 1988); *C.*

californiensis (García Domínguez *et al.*, 1995); *C. cortezi* (Benet, 1996); y *Mercenaria mercenaria* (Hesselman *et al.*, 1989). En este sentido Villalejo-Fuerte *et al.* (2000) infieren que esta proporción sexual cercana a 1 de *M. squalida* puede deberse a que la mortalidad natural y por pesca no es diferente entre sexos, y que no hay dimorfismo sexual en cuanto a talla en la que se pueda afectar algún sexo al momento de su captura, además de que posiblemente la tasa de crecimiento es igual para machos y hembras.

El ciclo gonádico en *M. squalida*, siguió una secuencia que involucró varios procesos, dentro de los que podemos destacar como los más importantes a la gametogénesis, el crecimiento progresivo de la gónada, la maduración de los gametos y la liberación de los mismos. Esta secuencia de eventos reproductivos, se presentó en machos y hembras para las dos localidades y fue significativamente diferente entre una localidad y otra.

M. squalida en la Laguna Ojo de Liebre presenta un marcado periodo de interrupción en la actividad reproductiva (altos porcentajes de organismos en fase de indiferenciación) de septiembre a enero. Sin embargo, en la población de Bahía Juncalito no hubo una interrupción de la actividad reproductiva durante el ciclo anual y solo se presentó la fase de indiferenciación en bajos porcentajes en octubre y noviembre, tal como lo reportan Villalejo-Fuerte *et al.* (1996) para Bahía Concepción y Baqueiro y Stuardo, (1977) para una población de Zihuatanejo,

México. En este sentido Villalejo-Fuerte *et al.* (2000) mencionan que la ausencia de un periodo de inactividad reproductiva en la población de Bahía Juncalito, puede deberse a que el alimento es abundante durante todo el año por lo que la población produce gametos en forma continua. Esta idea es reforzada por Baqueiro y Aldana (2000) quienes afirman que el periodo de indiferenciación o no-actividad reproductiva no es un requerimiento especie-específico sino que es más bien una respuesta a las condiciones ambientales.

Por otro lado, en el caso de la población de Bahía Juncalito las fases de madurez y desove estuvieron presentes durante todo el periodo de estudio (en diferentes proporciones), por lo que se asume que *M. squalida* de esta localidad presenta un ciclo reproductivo continuo. Esto coincide con lo reportado para esta misma especie en poblaciones de latitudes tropicales como Bahía de la Paz (Singh *et al.*, 1991), Bahía Concepción (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1996) y Bahía Zihuatanejo (Baqueiro y Stuardo, 1977). Este comportamiento reproductivo se ha observado también en otros bivalvos como *Periglypta multcostata* (García-Domínguez *et al.*, 1998).

En contraste a lo anterior en la población de la Laguna Ojo de Liebre las fases de madurez y desove se restringen al periodo de enero a agosto, lo cual nos indica que en esta localidad el ciclo reproductivo de *M. squalida* no se realiza de manera continua, sino que es estacional. Este comportamiento reproductivo se ha

observado en otros bivalvos como *Laevicardium elatum* (Villalejo-Fuerte, 1996 a.), *Pinna rugosa* (Ceballos-Vázquez *et al.*, 2000) y *Spondylus calcifer* (Villalejo-Fuerte, *et al.*, 2002).

Diferencias significativas en el ciclo reproductivo entre ambas localidades se reflejan también en las diferentes variables cuantitativas estudiadas. El índice de madurez (IM) permitió contrastar de manera cuantitativa los resultados histológicos. Se encontró que valores más altos en el IM indican una mayor actividad reproductiva. Así, de esta manera encontramos que en Bahía Juncalito se obtienen valores del IM durante todo el periodo de estudio, lo que indica que existe actividad reproductiva continua, es decir; en Bahía Juncalito no existe una época de reproducción definida. En el caso de la población de la Laguna Ojo de Liebre si existe un periodo reproductivo definido, el cual esta marcado por valores altos del IM y un periodo de inactividad reproductiva marcado por valores del IM menores a 1.

Además del índice de madurez como indicador de la actividad reproductiva, se consideraron también para este estudio los valores de porcentaje de área folicular (PAF) y diámetro de ovocitos como herramienta para asignar un valor cuantificable a la actividad reproductiva y reforzar las observaciones cualitativas realizadas.

Los valores más altos en el PAF encontrados para la Laguna Ojo de Liebre, se registraron en los meses de abril-agosto, lo cual coincide con los periodos de madurez y desove registrados para la especie en esta localidad. Para la localidad de Bahía Juncalito, la situación se presentó de manera diferente, observándose poca variación en el PAF a lo largo de los meses de muestreo, fenómeno que puede ser atribuido a que el proceso reproductivo de *M. squalida* se presentó como un proceso continuo a lo largo del tiempo. Esto coincide con lo reportado para especies como *Tellina pectitiana*, donde se menciona que la variación estacional en los valores promedios del porcentaje de área folicular registrados, pueden ser un reflejo de la variación estacional de la actividad reproductiva de la especie de acuerdo con sus estadios gonádicos (Barón *et al.*, 2001).

El diámetro de los ovocitos es un buen indicador de la actividad reproductiva, y ha sido aplicado a otras especies de bivalvos tales como *Argopecten circularis* (Villalejo-Fuerte y Ochoa-Báez, 1993), *Glycymeris gigantea* (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1995), *Laevicardium elatum* (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1996) y *Periglypta multicostata* (García-Domínguez *et al.*, 1998).

En la Laguna Ojo de Liebre el diámetro máximo de los ovocitos se presentó en julio (52 μm) y es correspondiente con la fase de madurez, fase en la cual los ovocitos alcanzan su mayor desarrollo y se preparan para ser liberados al exterior. El valor más bajo del diámetro promedio de ovocitos se registró en enero (31.2

μm) y corresponde con los meses en que los ovocitos se encuentran en su fase de desarrollo inicial por lo que todavía son muy pequeños. En esta localidad, los valores máximos y mínimos, presentan un intervalo más grande y un periodo de interrupción bien marcado, tal como sucede en *L. elatum* (Villalejo-Fuerte *et al.*, 1996 a). En cambio, en Bahía Juncalito los valores máximos y mínimos registrados, fueron de 40.3 μm en abril y de 25.5 μm en noviembre sin embargo, no se observa una tendencia clara a lo largo del periodo de muestreo en el diámetro promedio de ovocitos lo cual coincide con la continuidad que *M. squalida* presenta en su ciclo reproductivo durante todo el año. Esta continuidad nos indica que mientras se lleva a cabo la liberación de gametos, hay producción continua de los mismos a través de gametogénesis y crecimiento gonádico, de modo que hay un incremento en el número de ovocitos pequeños, y esto se refleja en los diámetros correspondientes. Este mismo comportamiento en el diámetro de los ovocitos a lo largo del ciclo anual se observa en *P. multcostata* (García-Domínguez *et al.*, 1998).

Por otra parte, el diámetro de los ovocitos fue mayor en términos generales para la Laguna Ojo de Liebre (durante los meses que estuvieron presentes) que para Bahía Juncalito. Esto, de acuerdo con el trabajo realizado por García-Cuellar (2001) para otra localidad, puede deberse a que en Bahía Juncalito hay una intensidad de desove más alta (proporción de la población desovante) y un acortamiento de las fases reproductivas, pues se presentaron periodos más acelerados en la recuperación de las gónadas. Asimismo, el hecho de que los

valores máximo y mínimo, en Ojo de Liebre estén separados por un intervalo amplio durante la mayor parte del año indica que la gametogénesis, el crecimiento y el desove fueron simultáneos en la población (García-Cuellar, 2001).

Al comparar la variación del diámetro de los ovocitos y el PAF entre localidades, nuevamente se observa que en la Laguna Ojo de Liebre existe una estacionalidad marcada del patrón reproductivo, evidenciada en esta caso por los valores de PAF y diámetro de ovocito presentes de enero a agosto y los valores de cero presentes de septiembre a diciembre donde los organismos se encontraron en fase de indiferenciación y posdesove. Por su parte, en la Bahía Juncalito se vuelve a encontrar que la actividad reproductiva es continua a lo largo del año.

Al comparar la temperatura del agua entre localidades se observa una diferencia de aproximadamente 5 °C, esta diferencia se mantiene más o menos constante a lo largo de todo el año. En la Laguna Ojo de Liebre es donde se registran los valores más bajos, con temperaturas mínimas cercanas a los 15 °C, y temperaturas máximas cercanas a los 25 °C; mientras que en Bahía Juncalito, la temperatura mínima registrada alcanza un valor de 20 °C, con una temperatura máxima de 30 °C.

Cruz y Villalobos (1993) y Rodríguez *et al.* (1993) mencionan que la producción de gametos en bivalvos está fuertemente influenciada por factores

exógenos como la temperatura, fotoperíodo, disponibilidad de alimento, etc. y factores endógenos ya sean genéticos u hormonales. Asimismo, la temperatura es un factor muy importante en la regulación de la reproducción en bivalvos (Sastry 1979). En este caso, las diferencias en el patrón reproductivo entre las localidades estudiadas pueden ser explicadas en parte por esta variación de la temperatura del agua. Se sabe que ocurren cambios en el patrón reproductivo de una especie dentro de un rango latitudinal ya que las temperaturas críticas (frías o cálidas) se presentan en diferentes meses o se mantienen durante el año propiciando que la reproducción se lleve a cabo de manera constante (Hesselman *et al.*, 1989), como sucede en este caso para *M. squalida* en Bahía Juncalito.

Lo anterior concuerda con lo reportado por Porter (1964) y Hesselman *et al.* (1989), quienes mencionan que las diferencias en el ciclo reproductivo entre poblaciones distintas parecen ser el resultado de respuestas fenotípicas a la variación de las condiciones ambientales, principalmente la disponibilidad de alimento y temperatura. En este sentido Baqueiro y Aldana (2000), afirman que algunas especies de moluscos, presentan diferente recuperación gonádica y patrones de desove asociados con condiciones microambientales en sus hábitats.

Baqueiro y Aldana (2000) mencionan que las variaciones en el patrón reproductivo en poblaciones de la misma especie entre localidades, pueden ser asociadas a inestabilidades ambientales o variaciones en parámetros críticos con una tendencia a optimizar los procesos reproductivos mediante diferentes

alternativas: a) una rápida gametogénesis con acumulación de gametos maduros, b) una gametogénesis lenta, con acumulación ausente o limitada de gametos maduros, c) desoves asincrónicos constantes y d) desoves sincrónicos, y todo puede suceder durante limitados a extensos periodos de tiempo.

9. CONCLUSIONES

- ***M. squalida* es una especie gonocórica, pero que presenta hermafroditismo casual.**
- **La proporción sexual es de 1H: 1M para ambas localidades.**
- **Los resultados cualitativos y cuantitativos obtenidos nos permiten concluir que sí existen diferencias en los patrones reproductivos de *M. squalida* entre ambas localidades.**
- **La actividad reproductiva en Bahía Juncalito se presentó de manera continua durante todo el año, sin una época de reproducción definida.**
- **En la Laguna Ojo de Liebre se observó una estacionalidad bien marcada con una época de reproducción de abril a agosto definida por altas temperaturas.**

10. RECOMENDACIONES

- Cuando se tienen recursos pesqueros potenciales como la almeja chocolata *Megapitaria squalida* y más aún cuando son objeto de una pesquería sin regulación como en este caso, es muy importante realizar estudios sobre la biología reproductiva ya que sientan algunas de las bases científicas necesarias para la regulación de su pesquería.
- A la luz de los resultados obtenidos y con el objeto de llevar a cabo una buena regulación de *M. squalida*, se enfatiza en la necesidad de realizar estudios de la biología reproductiva en cada una de las localidades en donde se explote esta especie, ya que pueden existir diferencias significativas en su ciclo reproductivo entre las localidades.

11. LITERATURA CITADA

- **Anguas-Vélez, B. y J.L. Castro-Ortíz. 1990. Probable existencia de dos ecofenotipos de *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en Bahía Concepción, B.C.S. Investigaciones Marinas CICIMAR, 4(1): 73-92.**
- **Arreola-Hernández, F. 1997. Aspectos reproductivos de *Dosinia ponderosa* (Gray, 1838) en Punta Arena, Bahía Concepción, B.C.S. México. Tesis de Maestría, CICIMAR, IPN, La Paz, B.C.S., México.**
- **Baqueiro, C.E. 1976. Observaciones sobre la biología y ecología de las “almejas roja, negra y blanca” (*Megapitaria aurantiaca*, *Megapitaria squalida* y *Dosinia ponderosa*). De la Bahía de Zihuatanejo e Isla Ixtapa, Guerrero, México. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.**
- **Baqueiro, C.E. y J. Stuardo. 1977. Observaciones sobre la biología, ecología y explotación de *Megapitaria aurantiaca* (Sow, 1831), *M. squalida* (Sow, 1835) y *Dosinia ponderosa* (Gray, 1838) (Bivalvia; Veneridae) de la Bahía de Zihuatanejo e Isla de Ixtapa, Guerrero, México. Anales Centro de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México, 4(1): 161-208.**
- **Baqueiro, C.E., I.R. Peña, y J. Massó. 1981. Análisis de una población sobre explotada de *Agropecten circularis* (Sowerby, 1835) en la Ensenada de La Paz, B.C.S., México. Ciencias Pesqueras; Instituto Nacional de la Pesca. México, 1(2): 57-65.**
- **Baqueiro, C.E., J. Massó y H. Guajardo. 1982. Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en Baja California Sur, México. Instituto Nacional de la Pesca, México. Serie de divulgación, (11): 32p.**

- **Baqueiro, C.E. y J. Massó. 1988. Variaciones poblacionales y reproducción de dos Poblaciones de *Chione undatella*, (Sowerby, 1835), bajo diferentes regímenes de pesca en la Bahía de La Paz, B.C.S. México. Ciencias Pesqueras, 6: 51-67.**
- **Baqueiro, C.E. 1989. Clam culture in México: past, present and future. En JJ Manzi y M. Castagna (Eds). Clam Mariculture in North America. Elsevier Sci. Pub. Amsterdam, 383-394.**
- **Baqueiro, C.E. y D. Aldana-Aranda. 2000. A review of reproductive patterns of bivalve mollusks from México. Bulletin of Marine Science. 66(1):13-27.**
- **Barón, J.P. y F.N. Ciocco. 2001. Reproductive cycle of the clam *Tellina pectitiana* d´ Orbigny, 1846, in Nuevo Gulf (Argentina). The Veliger, 44(4): 370-380.**
- **Benet, H.C. 1996. Ciclo reproductivo de la almeja *Chione cortezi* Carpenter, 1864 (Bivalvia: Veneridae) en la reserva de la Biosfera “Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado”. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 51 pp.**
- **Briggs, J.C. 1974. Marine Zoogeography. Mc Graw Hill. London. 475 p.**
- **Brinton, E., A. Fleminger y D. Siegel. 1986. The temperate and tropical planktonic biotas of the Gulf of California. CalCOFI Rep., 27: 228-266.**
- **Brousseau, D.J. 1987. A comparative study of the reproductive cycle of the softshell clam, *Mya arenaria* in Long Island Sound. Journal of Shellfish Res., 6:7-15.**

- **Castro-Ortiz, J.L., A. Tripp-Quezada y B. Anguas-Vélez. 1992. Crecimiento de la Almeja Chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en Bahía Concepción, Baja California Sur, México. Investigaciones Marinas CICIMAR, 7: 1-7.**
- **Ceballos-Vázquez, B.P., M. Arellano-Martínez, F. García-Domínguez y M. Villalejo-Fuerte. 2000. Reproductive cycle of the rugose pen shell, *Pinna rugosa* Sowerby, 1835 (Mollusca: Bivalvia) from Bahía Concepción, Gulf of California and its relation to temperature and photoperiod. Journal of Shellfish Research 19(1): 95-99.**
- **Coe, W.R. 1945. Development of the reproductive system and variations in Sexuality in pecten and other pelecypod molluscs. Transactions of the Connecticut Academy of Sciences, 36: 673-700.**
- **Cruz, A.R. y C.R. Villalobos. 1993. Shell length at sexual maturity and spawning cycle of mussel *Mytella guyanesis* (Bivalvia: Mytilidae) from Costa Rica. Revista Biología Tropical, 41(1): 89-92.**
- **Delgado, M. y A. Pérez-Camacho. 2002. Hermaphroditism in *Ruditapes decussatus* (L.) (Bivalvia) from the Galician coast (Spain). Sci. Mar., 66(2): 183-185.**
- **Dowdy, S. y S. Wearden. 1991. Statistics of research. Wiley and Sons, New York, 270-273.**
- **Félix-Pico, E.F. 1993. Estudio Biológico de la almeja Catarina, *Argopecten***

-
- circularis* (Sowerby, 1835) en Bahía Magdalena, B.C.S. México. Tesis de Maestría, CICIMAR, IPN, La Paz, B.C.S. México. 89p.
- Franco, M. 1997. Estructura de la taxocenosis de Quetognatos en la región central del Golfo de California. Tesis de Maestría, CICIMAR, IPN, La Paz, B.C.S. México. 105p.
 - García-Cuellar, J.A. 2001. Ciclo reproductivo de la madreperla *Pinctada mazatlanica*, (Hanley, 1856), y su relación con los fenómenos de “El Niño” y “La Niña” (1997 –1999), en la Isla Espíritu Santo, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría, CICIMAR, IPN, La Paz, B.C.S., México.
 - García-Domínguez, F., S.A. García- Gasca y J.L. Castro-Ortiz. 1994. Spawning cycle of the red clam *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby, 1831) (Veneridae) at Isla Espíritu Santo, B.C.S. México. *Journal of Shellfish Research*, 13(2): 417-423.
 - García-Domínguez, F., B.P. Ceballos-Vázquez, M. Villalejo-Fuerte y M. Arellano-Martínez. 1998. Reproductive cycle of the giant reef clam *Periglypta multcostata* (Sowerby, 1835) (Pelecypoda: Veneridae) at Isla Espíritu Santo, Baja California Sur, México. *Journal of Shellfish Research*, 17(4): 1009-1013.
 - García-Gasca. S.A. y F.A. García-Domínguez. 1995. Histología comparada del manto marginal y paleal de las almejas *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby, 1831) y *M squalida* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México*, 40: 173-181.
 - Gibson, R. 1978. Reproduction in two sympatric species of *Macoma* (Bivalvia). *Buik. Bull.*, 155: 207-219.

-
- Giese, A.C. y J.S. Pearse. 1974. Introduction: General principles. In: A.C. Giese & J.S. Pearse (Eds.), *Reproduction of marine invertebrates*. London Academic Press, New York, 1:1-49.
 - Grant, A. y P.A. Tyler. 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 6: 259-269.
 - Grant, A. y P.A. Tyler. 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II. The analysis of oocyte size / frequency data, and comparison of different types of data. *International Journal Invertebrate Reproduction*, 6: 271-283.
 - Gorrosieta-Hurtado, E. 1997. Ciclo gonádico de *Cardita affinis* (Sowerby, 1833) y de *Arca pacifica*, (Sowerby, 1833) (Mollusca: Bivalvia) en Punta Arena, Bahía Concepción, B.C.S. México. Tesis de Maestría, CICIMAR, IPN, La Paz, B.C.S., México, 100p.
 - Heffernan, P., L. Walker y J. Carr. 1989. Gametogenic cycles of three bivalves in Wasaw Sound Georgia: I. *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758). *Journal of Shellfish Research*, 8(1): 51-60.
 - Hesselman, D. M., B.J. Barber y N.J. Blake. 1989. The reproductive cycle adult hard clams, *Mercenaria spp.* in the Indian River Lagoon, Florida. *Journal of Shellfish Research*, 8(1): 43-49.
 - Holguín-Quiñones, O.E. y A.C. González-Pedraza. 1994. Moluscos de la Franja Costera de Michoacán, Colima, Jalisco y México. Instituto Politécnico Nacional. México. 133p.

- Humason, G.L. 1979. **Animal Tissue Techniques**. 4a. Ed. W.H. Freeman and Co. San Francisco. 661p.
- Keen, A.M. 1971. **Sea shells of tropical west America. Marine Mollusks from Baja California to Peru**. California, Stanford University Press. 1025p.
- Lubet, P. 1959. **Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilides et les pectinides (Mollusques bivalves)**. Rev. Trav. Inst. Pêches. Marit., 23:389-548.
- Martínez-Córdova, L.R. 1988. **Bioecología de la almeja negra *Chione fluctifraga* (Sowerby, 1853)**. Revista de Biología Tropical 36:213-219.
- Moor, H.B. y N.N. López. 1970. **A contribution to the ecology of the lamellibranch *Dosinia elegans***. Bulletin of Marine Science 20(4):980-986.
- Noguera, O. y S. Gómez-Aguirre. 1972. **Ciclo anual de *Pinna rugosa* Sowerby, 1835 (Lamellibranchia: Pinnidae) de La Paz, B.C.S. México**. Memorias del IV Congreso Nacional de Oceanografía. México: 273-283.
- Norton, O.A. 1947. **Some observations on *Dosinia discus* Reeve at Beaufort, North Carolina**. Ecology 28(2): 199-204.
- Ochoa-Báez, R.I. 1985. **Antecedentes sobre el ciclo de reproducción de *Modiolus capax* (Conrad, 1837) (Bivalvia: Mytilidae) en la Bahía de La Paz, B.C.S. México**. Investigaciones Marinas CICIMAR, 2(2): 86-103.
- Porter, H.J. 1964. **Seasonal gonad changes of adult clams *Mercenaria mercenaria* (L), in North Carolina**. Proceeding National Shellfish Association, 55: 35-52.

- Prado-Ancona, D. 1998. Ciclo reproductivo de tres poblaciones de *Chione californiensis* Broderip, 1835 (Bivalvia: Veneridae) en Baja California Sur, México. Tesis de Maestría, CICIMAR, IPN, La Paz, B.C.S., México, 103p.
- Rodríguez, S., R. Quintana, L. Lamas, G. Ayensa, F.J. Velasco y C. Pascual. 1993. Etude comparative du cycle gamétogénique et composition biochimique de *Tapes decussatus* et *Ruditapes philippinarium* dans la Ría de Muros y Noya. In: G. Barnab y P. Kestemont (Eds.). Production, Environment and Quality Bordeaux Aquaculture 92'. European Aquaculture Society. Special Publication. No. 18. Ghent, Belgium: 503-511.
- Ropes, J. W. 1968. Reproductive cycle in the surf clam, *Spisula solidissima*, in offshore New Jersey. *Biology Bulletin*, 135: 349-365.
- Ropes, J. W. y A.P. Stickney. 1968. Reproductive cycle of *Mya arenaria*, in New England. *Biology Bulletin*, 135(2): 349-365.
- Sastry, A. N. 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). pp. 131-192. In A. C. Giese & J. S. Pearse (Eds.). *Reproduction of Marine Invertebrates*. Academic Press, New York.
- Saucedo, P., C. Rodríguez-Jaramillo y M. Monteforte. 2002. Microscopic anatomy of gonadal tissue and specialized storage cells associated with oogenesis and spermatogenesis in the calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Bivalvia: Pteriidae). *Journal of Shellfish Research*. 21(1): 145-155.
- SEPESCA, 1994. Atlas Pesquero. Pesquerías relevantes de México. Instituto Nacional de la Pesca.

-
- Sevilla, M.L. 1969. Contribución al conocimiento de la madreperla *Pinctada mazatlánica* (Hanley, 1845). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 30: 223-261.
 - Singh, C.J., J.A. Vélez y M.C. Fajardo, 1991. Estudio poblacional de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en punta Coyote, Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Ciencia Pesquera, Instituto Nacional de la Pesca. México*, 8: 1-22.
 - Sokal, R.R. and F.J. Rohlf. 1979. *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H. Blume Ediciones. Madrid, España. 832 pp.
 - Sugiura. Y. 1962. Electrical induction of spawning in two marine invertebrates (*Urechis unicintus* and hermaphroditic *Mytilus edulis*). *Biology Bulletin*, 123: 203-206.
 - Villalejo-Fuerte, M. y R.I. Ochoa-Báez. 1993. El ciclo reproductivo de la almeja catarina, *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835), en relación con la temperatura y fotoperiodo, en Bahía Concepción, B.C.S. México. *Ciencias Marinas* 19(2): 181-202.
 - Villalejo-Fuerte, M. & B.P. Ceballos-Vázquez. 1995. Variación de los índices de condición general, gonádico y de rendimiento muscular en *Argopecten circularis* (Bivalvia: Pectinidae). *Revista de Biología Tropical*. 44:591-594.
 - Villalejo-Fuerte, M., B.P. Ceballos-Vázquez y F. García-Domínguez. 1996. Reproductive cycle of *Laevicardium elatum* (Sowerby, 1833) (Bivalvia: Cardiidae) in Bahía Concepción, Baja California Sur, México. *Journal of Shellfish Research*, 15(3): 741-745.

- Villalejo-Fuerte, M., G. García-Melgar, R.I. Ochoa-Báez y A. García-Gasca, 1996. Ciclo reproductivo de *Megapitaria squalida*. (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae) en Bahía Concepción, B.C.S. México. Instituto Nacional de la Pesca y Acuacultura. Santa Fe de Bogotá, Colombia. Boletín No. 4.
- Villalejo-Fuerte, M., M. Arellano-Martínez, B.P. Ceballos-Vázquez y F. García-Domínguez. 2000. Ciclo reproductivo de la almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae) en Bahía Juncalito, Golfo de California, México. *Hidrobiología* 10:165-168.
- Villalejo-Fuerte, M., M. Arellano-Martínez, B.P. Ceballos-Vázquez y F. García-Domínguez. 2002. Reproductive cycle of *Spondylus calcifer* Carpenter, 1857 (Bivalvia: spondylidae) in the “Bahía de Loreto” National Park, Gulf of California, México. *Journal of Shellfish Research*, 21(1): 103-108.