



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

Programa de Estudios de Posgrado

**EVALUACIÓN DE INDICADORES CUALITATIVOS Y  
CUANTITATIVOS DE CALIDAD DE GÓNADA Y TEJIDOS  
SOMÁTICOS DE LA MADREPERLA *Pinctada mazatlanica*  
(HANLEY, 1856) RELACIONADOS CON LA  
REPRODUCCIÓN**

**TESIS**

Que para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
( Orientación Acuicultura )

Presenta

**María Eliana Gómez Robles**

La Paz, Baja California Sur, Julio de 2008

## ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12:00 horas del día 18 del Mes de Junio del 2008, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**“Evaluación de indicadores cualitativos y cuantitativos de calidad de gónada y tejidos somáticos de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) relacionados con la reproducción”**

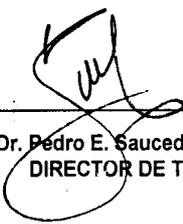
Presentada por el alumno:

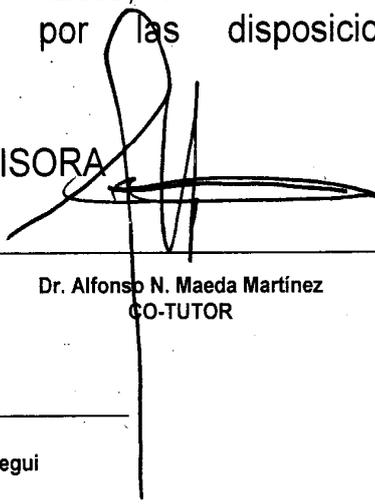
**María Eliana Gómez Robles**

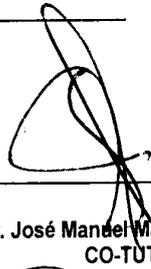
Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Acuacultura

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

LA COMISION REVISORA

  
Dr. Pedro E. Saucedo Lastra  
DIRECTOR DE TESIS

  
Dr. Alfonso N. Maeda Martínez  
CO-TUTOR

  
Dr. José Manuel Wazón Suástegui  
CO-TUTOR

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

## **Conformación de comités**

### **La presente tesis fue dirigida por:**

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

### **El comité tutorial y revisor estuvo integrado por los siguientes miembros:**

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

Dr. José Manuel Mazón Suástegui      Centro de Investigaciones  
Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

### **El jurado de examen estuvo integrado por los siguientes miembros:**

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

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

Dr. José Manuel Mazón Suástegui      Centro de Investigaciones  
Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

### **Suplente:**

Dra. María Teresa Sicard González      Centro de Investigaciones  
Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

## RESUMEN

El conocimiento sobre la condición de los reproductores (= calidad de gónadas) de la madreperla *Pinctada mazatlanica* y su impacto sobre el desarrollo embrionario y larvario, es esencial para proporcionar un conocimiento más amplio sobre la fisiología de la especie y asegurar que la producción de semilla sea continua y suficiente en condiciones de cultivo. Este estudio estuvo dirigido hacia la definición de indicadores confiables acerca de la calidad de tejidos germinales y somáticos que participan en el ciclo reproductivo de la especie, evaluando la relación entre estos indicadores y la dinámica ambiental. El objetivo final fue identificar aquellos momentos en los cuales la condición fisiológica de los reproductores es óptima y no óptima para prácticas de larvicultura. Se utilizaron técnicas de análisis digital de imágenes e histoquímica cuantitativa para determinar un índice lipídico y glucídico de gónada, ovocitos y túbulos seminíferos así como de músculo y adenómeros de la glándula digestiva. En la gónada femenina se encontró un alto contenido de lípidos en primavera, el cual se correlacionó con un bajo contenido lipídico en la glándula digestiva. Esto sugiere que la glándula digestiva movilizó energía hacia la gónada para la producción de gametos. En la misma estación, una tendencia de decremento del índice glucídico en la gónada femenina indicó el paso de reservas de glucógeno del músculo aductor a la gónada. En gónada masculina, el contenido de glucógeno fue mayor que el de lípidos, indicando la transferencia desde el músculo aductor para sustentar la espermatogénesis. Durante la gametogénesis, la acumulación de lípidos en los ovocitos ocurrió a partir de las reservas almacenadas en invierno, mientras que las reservas glucídicas provinieron del músculo aductor. En túbulos seminíferos, no se encontró relación entre el índice glucídico del músculo aductor y contenido de carbohidratos, sugiriendo que estas reservas se obtuvieron del alimento ingerido. En términos de energía, estos resultados ayudaron a determinar que los momentos óptimos para usar reproductores durante las prácticas de producción de semilla son en primavera (principalmente) e invierno (secundariamente), debido a la calidad de los tejidos durante estas estaciones.

**Palabras clave:** indicadores cualitativos y cuantitativos, calidad, ciclo reproductivo.

Vo. Bo.



---

Dr. Pedro E. Saucedo Lastra

Director de tesis

## **ABSTRACT**

### **Evaluation of qualitative and quantitative indicators of quality of germinal and somatic tissues of the mother-of-pearl oyster *Pinctada mazatlanica* and their relation with reproduction**

Proper knowledge of broodstock condition (=gamete quality) of the mother-of-pearl oyster *Pinctada mazatlanica*, and its impact on embryological and larval development, is essential for providing a broader understanding of reproductive physiology of the species, and ensuring continuous and sufficient production of spat under hatchery conditions. This study was aimed to define reliable indicators of quality of germinal and somatic tissues that participate on reproductive cycle of the species, evaluating the relation of these indicators with the dynamics of the environment. The final goal was to identify moments in which physiological condition of broodstock is suitable and unsuitable for larval rearing practices. We used digital image analysis and quantitative histochemistry techniques for determining a lipid index and a glucidic index of the gonad, oocytes and seminal tubules, as well as adductor muscle and adenomeros from the digestive gland. In the female gonad, we found high lipid contents in spring, which were correlated with low lipid contents in the digestive gland. This trend suggests that the digestive gland mobilized energy to the gonad for the built-up of gametes. In the same season, a decreasing trend of the glucidic index of female gonad indicated allocation of glycogen reserves from adductor muscle to the gonad. In male gonads, glycogen content was higher than lipid content, indicating in this case transfer from adductor muscle to sustain spermatogenesis. During gametogenesis, accumulation of lipids within oocytes occurred from reserves stored in winter, while glycogen reserves arose from adductor muscle. In seminal tubules, there was no relation between glucidic index of adductor muscle and carbohydrate content, suggesting that these reserves were obtained from ingested food. In energy terms, these results helped determining that the moments considered optimal for using broodstock during spat production activities are in spring (mainly) and winter (secondly), because of higher tissue performance during these seasons.

**Keywords:** qualitative and quantitative indicators; quality; reproductive cycle.

## DEDICATORIA

*A la memoria de Aurora Cota y Román Gómez*

*A mi hija Aurora, mi pequeño gran logro*

*A mis padres Sandra y Sergio, por su amor*

*A mis hermanos Valeria y Sergio, por su apoyo*

*A toda mi familia, por estar siempre a mi lado*

*A mis amigas y amigos, por estar en las buenas y en las malas pero sobretodo en las peores*

*A ti, que aunque no estés...siempre estás*

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera empezar agradeciendo a todas las personas que aportaron un granito de arena en la realización de esta tesis, en verdad que su ayuda enriqueció este trabajo.

A las autoridades de CONACYT por el apoyo económico otorgado y así llevar a buen término esta meta profesional.

A la Dra. Thelma Castellanos y a todo el personal del Programa de Posgrado del CIBNOR (Osvelia, Betty, Claudia, Letty, Horacio) por el apoyo y facilidades prestadas durante mis estudios.

A mis asesores Pedro E. Saucedo Lastra, Alfonso N. Maeda Martínez y José Manuel Mazón Suástegui, por las revisiones y sugerencias que enriquecieron el presente trabajo. Especialmente, al Dr. Pedro Saucedo por guiarme en la orientación correcta dentro de mi formación personal. Pedro, no sólo te agradezco el ser mi mentor, sino también por creer en mí, por la confianza, por las enseñanzas y por la amistad. ¡Gracias!

Al laboratorio de Histología e Histoquímica del CIBNOR, por las facilidades otorgadas para la parte experimental de este trabajo. Especialmente a la M. en C. María del Carmen Rodríguez Jaramillo porque una vez más gracias por tu disposición para apoyarme y asesorarme, así como todas tus recomendaciones que sin lugar a dudas enriquecieron este trabajo.

Al Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos, en especial al M. en C. Armando Monge por facilitarme las instalaciones para la disección de los organismos (otra vez Armando, mil disculpas por el ácido acético derramado y que ocasionó que todos abandonáramos el laboratorio).

Al M. en C. Francisco E. Hernández Sandoval del Laboratorio de Pigmentos, por los análisis para determinación de clorofila *a*.

A Horacio Bervera, Johnny y Mario Cota por las salidas a campo para la recolecta de organismos.

A mis maestros, a la academia de Acuicultura, ya que sus conocimientos y sugerencias ayudaron en mi formación profesional.

A mis compañeros y amigos de generación, Fercho, Jorge Iván, Pedro, Laura, Érika, Óscar, Vero, Luzali, Nica, Mario, Mauricio, Mara, Rigo...Por el

tiempo compartido en lo académico y en lo no académico...Si faltó alguno no fue por ser menos importante sino porque este apartado también es de los difíciles.

A mis padres y hermanos, por demostrarme una vez más su amor, pero sobretodo por el apoyo en mis decisiones tanto profesionales como personales.

A las familias Castillo Robles, López Robles y Quiñónez Robles por su amor y apoyo en mis realizaciones profesionales.

A mis amigas de siempre y por siempre, Elizabeth, Chuyita, Sabrina, Johana, Cyndia, Jessica. Por tantos años de amistad, por tantas experiencias vividas, por estar cuando todos están y más cuando nadie está. ¡¡Gracias!!

A Rommel, gracias por enseñarme el valor de las palabras y de las acciones, gracias por demostrarme cosas que jamás creí pero sobretodo gracias por traer a mi vida todo lo bueno que persiste hoy y persistirá por siempre.

A mi hija Aurora (¡moosaa!), porque desde el día que llegaste a mi vida supe lo que era vivir y la necesidad de existir. Por el tiempo robado para cumplir esta meta. Esto es por ti y para ti mi corazón, para que te sientas orgullosa de mí.

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	7
2.1. Historia de la pesquería de perlas y situación actual del cultivo de perlas..	7
2.2. Ciclos de síntesis, partición y uso de reservas energéticas en moluscos bivalvos y ostras perleras.....	10
2.3. Biología reproductiva de bivalvos y ostras perleras.....	14
2.4. Indicadores de calidad de tejidos, gametos y/o larvas.....	17
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	22
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	24
4.1. General.....	24
4.2. Particulares.....	24
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	25
5.1. Objetivo general.....	25
5.2. Objetivos particulares.....	25
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	26
6.1. Recolecta y disección de especímenes.....	26
6.2. Análisis cualitativos (histológicos) y cuantitativos (histoquímicos).....	28
6.3. Análisis digital de imágenes.....	30
6.3.1. Gónada.....	32
6.3.2. Glándula digestiva.....	34
6.3.3. Músculo aductor.....	34
6.4. Tratamiento estadístico.....	35
<b>7. RESULTADOS</b> .....	36
7.1. Efecto de los parámetros ambientales sobre el ciclo reproductivo.....	36
7.1.1. Temperatura.....	36
7.1.2. Clorofila <i>a</i> .....	36
7.2. Distribución de tallas y peso de los organismos.....	38
7.3. Análisis cualitativos.....	40
7.3.1. Ciclo reproductivo.....	40
7.4. Análisis cuantitativo.....	44
7.4.1. Proporción de sexos.....	44
7.4.2. Gónada femenina.....	45
7.4.4.2. Análisis de ovocitos.....	51
7.4.3. Gónada masculina.....	53
7.4.4. Glándula digestiva.....	57
7.4.5. Músculo aductor.....	62
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	65
8.1. Efecto de los parámetros ambientales sobre la biología reproductiva de la especie.....	65
8.2. Utilidad de los indicadores de calidad de gónada y tejidos somáticos.....	69
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	80
<b>10. LITERATURA CITADA</b> .....	82
<b>11. ANEXOS</b> .....	101

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Producción mundial de peces y mariscos por concepto de captura y acuicultura, de 1970 a 2005. Tomado de la FAO (2005).....	1
<b>Figura 2.</b> Localización del área de estudio dentro de la Bahía de La Paz.....	27
<b>Figura 3.</b> Valva derecha de <i>Pinctada mazatlanica</i> mostrando los tejidos disectados. Tomada de Saucedo y Southgate (2008).....	29
<b>Figura 4.</b> Relación entre la temperatura del agua y la concentración de clorofila <i>a</i> en la zona de estudio durante el periodo 2005-2006.....	37
<b>Figura 5.</b> Análisis de correlación entre la temperatura del agua de mar y la concentración de clorofila <i>a</i> durante 2005-2006.....	37
<b>Figura 6.</b> Distribución de tallas (altura de la concha, mm) de <i>P. mazatlanica</i> durante un ciclo anual.....	39
<b>Figura 7.</b> Distribución en el peso fresco con concha (g) de <i>P. mazatlanica</i> durante un ciclo anual.....	39
<b>Figura 8</b> Distribución en el peso del músculo aductor (g) de <i>P. mazatlanica</i> durante un ciclo anual.....	40
<b>Figura 9.</b> Microfotografía (40X) de un corte transversal de gónada (40x) de <i>P. mazatlanica</i> teñido con azul alciano-PAS, mostrando en hembras (A), los folículos ováricos (Fov), ovocitos previtelogénicos (Opr), ovocitos vitelogénicos (Ovi), ovocitos postvitelogénicos (Opo) y células auxiliares (Cau); en machos (B), se muestran túbulos seminíferos (Tbs), espermatogonias (Epg), espermatoцитos (Est) y espermatozoides (Esp). Escala = 50 $\mu$ m.....	41
<b>Figura 10.</b> Ciclo reproductivo de la madreperla <i>P. mazatlanica</i> durante el periodo 2005-2006 y su relación con la temperatura del agua. IND = indiferenciado; DES = desarrollo; MAD = madurez; POS = postdesove.....	42
<b>Figura 11.</b> Ciclo reproductivo de la madreperla <i>P. mazatlanica</i> durante el periodo 2005-2006 y su relación con la concentración de clorofila <i>a</i> . IND = indiferenciado; DES = desarrollo; MAD = madurez; POS = postdesove.....	43
<b>Figura 12.</b> Proporción de sexos de <i>P. mazatlanica</i> durante el ciclo reproductivo 2005-2006.....	44
<b>Figura 13.</b> Variaciones estacionales en el índice de tejido gonadal de hembras de <i>P. mazatlanica</i> durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	45
<b>Figura 14.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en los ovocitos de <i>P. mazatlanica</i> durante un ciclo anual 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	47
<b>Figura 15.</b> Relación entre los índices glucídico y lipídico y el diámetro teórico de los ovocitos de <i>Pinctada mazatlanica</i> .....	48
<b>Figura 16.</b> Relación entre el diámetro teórico de los ovocitos de <i>P. mazatlanica</i> y el índice glucídico (A), índice lipídico (B) y áreas de cobertura de ambos componentes.....	49
<b>Figura 17.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en los ovocitos de <i>P. mazatlanica</i> y su comportamiento con clorofila <i>a</i> y temperatura.....	50

<b>Figura 18.</b> Variaciones estacionales del diámetro teórico de ovocitos de <i>P. mazatlanica</i> durante 2005-2006.....	51
<b>Figura 19.</b> Histograma de tallas de ovocitos de <i>P. mazatlanica</i> durante un ciclo anual. A; microfotografía mostrando la talla de ovocitos previtelogénicos (Prev), vitelogénicos 1 y 2 (Vit1y Vit2) y postvitelogénicos (Post). Escala = 50 $\mu\text{m}$ .....	52
<b>Figura 20.</b> Variaciones estacionales en el índice de tejido gonadal de machos de <i>P. mazatlanica</i> durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	53
<b>Figura 21.</b> Variaciones estacionales en la talla de túbulos seminíferos de <i>P. mazatlanica</i> durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	55
<b>Figura 22.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en la gónada masculina de <i>P. mazatlanica</i> durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	56
<b>Figura 23.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en la gónada masculina de <i>P. mazatlanica</i> y su comportamiento con temperatura y clorofila <i>a</i> .....	57
<b>Figura 24.</b> Microfotografía de la glándula digestiva de <i>P. mazatlanica</i> mostrando lipofuscinas (LPF) dentro de los adenómeros. Escala = 100 $\mu\text{m}$ ...	58
<b>Figura 25.</b> Variaciones estacionales en el área de los adenómeros de la glándula digestiva de <i>P. mazatlanica</i> durante el periodo 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	59
<b>Figura 26.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos (arriba) y lípidos (abajo) en la glándula digestiva de <i>P. mazatlanica</i> . Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	61
<b>Figura 27.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en la glándula digestiva de <i>P. mazatlanica</i> y su comportamiento con clorofila <i>a</i> y temperatura.....	62
<b>Figura 28.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en el músculo aductor de <i>P. mazatlanica</i> durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.....	63
<b>Figura 29.</b> Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en el músculo aductor de <i>P. mazatlanica</i> y su comportamiento con clorofila <i>a</i> y temperatura.....	64

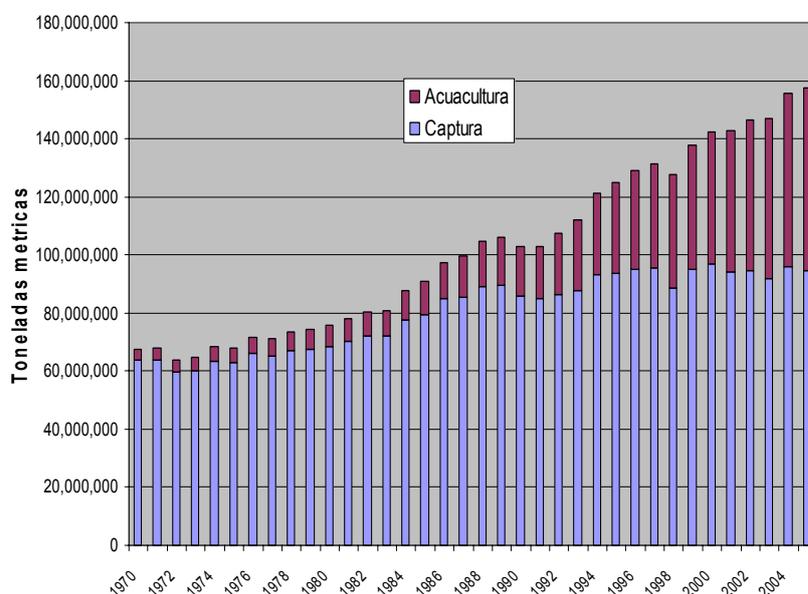
## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Producción por acuicultura de acuerdo a grupos de importancia comercial. Tomado de FAO (2005) .....	3
<b>Tabla II.</b> Medidas morfométricas de la madreperla <i>P. mazatlanica</i> durante el ciclo anual 2005-2006 (media $\pm$ error estándar).....	38
<b>Tabla III.</b> Variaciones estacionales de las principales componentes celulares de la gónada femenina de <i>P. mazatlanica</i> durante el ciclo 2005-2006. ITG = índice de tejido gonadal; AO = área ovocito; DT = diámetro teórico; $\Sigma$ ACC/L = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ DCC/L= sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ PCC/L = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos; IG/IL = índice glucídico/lipídico en ovocitos. Se presenta la media $\pm$ error estándar.....	106
<b>Tabla IV.</b> Variaciones estacionales de los principales componentes celulares de la gónada masculina de <i>P. mazatlanica</i> durante el ciclo 2005-2006. ITG = índice de tejido gonadal; AT = área túbulo seminífero; $\Sigma$ ACC/L = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ DCC/L = sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ PCC/L = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos; IG/IL = índice glucídico/lipídico en gónada masculina. Se presenta la media $\pm$ error estándar.....	107
<b>Tabla V.</b> Variaciones estacionales de los principales componentes celulares de la glándula digestiva de <i>P. mazatlanica</i> . AA = área adenómero; $\Sigma$ ACC/L = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ DCC/L = sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ PCC/L = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos; IG/IL = índice glucídico/lipídico en glándula digestiva. Se presenta la media $\pm$ error estándar....	108
<b>Tabla VI.</b> Variaciones estacionales de los principales componentes celulares del músculo aductor de <i>P. mazatlanica</i> . $\Sigma$ ACC/L = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ DCC/L = sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos; $\Sigma$ PCC/L = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos; IG/IL = índice glucídico/lipídico en músculo aductor. Se presenta la media $\pm$ error estándar.....	109

## 1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura se ha convertido en las últimas décadas en una de las actividades de más rápido desarrollo y mayor producción en el mundo entero, la cual está dirigida por completo a la captura de especies de interés comercial. Tan solo en el período comprendido de 1980 a 1990, la tasa de crecimiento de las prácticas acuiculturales fue mucho más rápida que la que se había previsto, alcanzando valores cercanos a los obtenidos mediante actividades pesqueras (Lucas y Southgate, 2005). Por ejemplo, para el 2004 la producción de pescados y mariscos por captura disminuyó al 60%, en tanto que la de acuicultura aumentó al 40% (Fig. 1, Datos de la FAO).

Para ejemplificar tal incremento, para el año 2000 se predijo que la producción podría exceder las 19.6 millones de toneladas métricas; valor que fue excedido en los años siguientes.



**Figura 1.** Producción mundial de peces y mariscos por concepto de captura y acuicultura, de 1970 a 2005. Tomado de la FAO (2005).

Aunque no se precisa la cifra concreta de tal exceso en la producción por acuicultura, varios autores coinciden en que las predicciones dictadas para el 2000 se alcanzaron durante el periodo comprendido entre 1991 y 1995 (New, 1997). Las predicciones para el año 2010 de acuerdo con la FAO son de 105 a 110 millones de toneladas métricas por año, cifra que seguramente se alcanzará dado el crecimiento poblacional.

Aún cuando la principal producción por acuicultura en México son los peces dulceacuícolas (carpa, tilapia), en los últimos años se ha presentado un creciente interés hacia el cultivo de moluscos, dada su abundancia y volúmenes de pesca. Además, se trata de organismos de fácil manejo por sus hábitos de vida sedentarios, alimentación a base de fitoplancton del medio natural, alto valor nutricional y excelente sabor, ya sea crudo o cocinado (Lucas y Southgate, 2005). En el 2001, la producción mundial de moluscos se estimó en 9 mil mdd (FAO, 2001), cifra que coloca a este grupo de organismos en el segundo lugar en cantidad y valor en la producción mundial, incluso por encima de los crustáceos (Tabla I). Dentro del grupo de moluscos, los bivalvos se han catalogado como uno de los principales para la acuicultura.

Una de las pesquerías más importantes de moluscos se encuentra en el Pacífico Norte, principalmente los estados de Baja California, Baja California Sur y Sonora. En estos lugares, las especies de mayor demanda comercial son los pectínidos, pínidos y ostréidos; y en menor grado los venéridos y ptéridos, aún cuando se cuenta con dos especies de ostras perleras.

**Tabla I.** Producción por acuicultura de acuerdo a grupos de importancia comercial. Tomado de FAO (2005).

Grupos de Especies	Toneladas	%	Dolares x 1000	%
Plantas acuaticas	14,789,972	23%	7,118,391	9%
Crustaceos	3,961,200	6%	15,717,669	20%
Peces diadromos	2,880,155	5%	9,412,287	12%
Peces agua dulce	25,778,218	41%	27,552,548	35%
Peces marinos	1,643,125	3%	5,734,183	7%
Productos de animales acuaticos	19,282	0%	336,066	0%
Animales acuaticos varios	438,345	1%	1,470,817	2%
Moluscos	13,448,749	21%	11,041,264	14%
<b>Total</b>	<b>62,959,046</b>	<b>100%</b>	<b>78,383,225</b>	<b>100%</b>

Los géneros más representativo de ostras perleras son *Pinctada* y *Pteria*, especies cuyo aprovechamiento más importante es indudablemente la producción de perlas, consideradas *per se* una de las gemas más preciosas del mundo producidas de manera natural y altamente valuadas (Monteforte, 1990, 1996; Gervis y Sims, 1992).

A su vez, se trata de especies susceptibles de un aprovechamiento integral ya que la *concha*, pulida y esmerilada, es aprovechada en la fabricación de botones y objetos ornamentales, así como en joyería fina con incrustaciones en piedras preciosas (Cariño y Monteforte, 1999; Saucedo, 2001). El *nácar* se aprovecha en trabajos de fina incrustación en metales preciosos, además de que también es empleado en la industria cosmetológica para la elaboración de cremas de belleza de todo tipo (Monteforte, 1990, 1996). Asimismo, se ha descubierto que el *nácar* posee una micro-dureza mayor que

la del titanio, así como un alto potencial terapéutico y capacidad osteogénica, por lo que se emplea en Biomedicina para la regeneración de médula ósea, soldadura de huesos rotos y reconstrucción de defectos óseos y maxilares (Atlan *et al.*, 1997; Lamghari *et al.*, 1999; Pereira-Mouries *et al.*, 2002). Por su parte, el *músculo aductor* (callo), al ser rico en proteínas, es considerado como un producto de alta gastronomía principalmente en los mercados asiáticos, en donde se comercializa ya sea crudo, sazonado o enlatado, o bien puede destinarse para crianza y engorda de animales de importancia comercial (Cariño y Monteforte, 1999; Saucedo, 2001).

En Bahía de La Paz las ostras perleras fueron sobreexplotadas y debido a la situación demográfica tan crítica de los bancos naturales, alrededor del año 1985, instituciones como el CIBNOR y la UABCS desarrollaron proyectos de investigación dirigidos al estudio de la biología y ecología de *P. mazatlanica* y *P. sterna*, así como a la recuperación del recurso en B.C.S. Como parte de tales investigaciones se han realizado estudios referentes a la colecta, preengorda, cultivo de fondo y repoblamiento de ambas especies. Particularmente, la producción de semilla en laboratorio es un tema que aún no se ha logrado descifrar, al menos en lo que respecta para la madreperla, dado que uno de los principales cuellos de botella para el control de la producción de semilla en ambientes controlados, es precisamente el estudio de la biología reproductiva.

En cuanto a la biología reproductiva, en invertebrados marinos el ciclo reproductivo se divide en un número variable de etapas, cada una descrita con

base en sus características histológicas más importantes. Se sabe que el ciclo reproductivo se encuentra regido por diversos factores (temperatura, alimento, salinidad, fotoperiodo, hormonas, genética), de los cuales la temperatura es el parámetro más importante al regular/ modular la actividad reproductiva. Cada ciclo se mide en tiempo y comprende la acumulación de nutrientes y su movilización para ser utilizados durante la gametogénesis (Sastry, 1979; Giese y Pearse, 1974; Barber y Blake, 1981, 1991). Este último es uno de los aspectos más importantes de los ciclos reproductivos, ya que van de la mano con cambios en los ciclos de almacenamiento, partición y utilización de reservas energéticas durante la gametogénesis.

En ostras perleras, aún cuando se asume que se experimentan rutas metabólicas similares a las de otras familias de bivalvos, es poco lo que se puede concluir dado lo escaso de los estudios realizados (Desai *et al.*, 1979; Saucedo *et al.*, 2002b; Vite-García y Saucedo, 2008; Cáceres-Puig, 2007). De estos estudios se puede asumir con cautela que, al tratarse de organismos que se localizan en una zona de transición entre dos ambientes (tropical y templado), sus estrategias de regulación difieren a la de otras especies. En el caso de la madreperla existe una combinación de estrategias conservadoras y oportunistas para administrar la energía disponible y de esta manera regular la gametogénesis. Con lo mencionado anteriormente, es evidente la necesidad de generar más conocimiento acerca de la biología reproductiva de *P. mazatlanica* para determinar la condición reproductiva de los organismos mantenidos en laboratorio y así garantizar un abasto continuo de semilla para apoyar las

operaciones de perlicultura. Esta problemática representa el cuello de botella más importante para el control de la reproducción de la especie en cautiverio.

Finalmente, considerando que el proceso reproductivo, orientado principalmente a definir la calidad ovocitaria y garantizar viabilidad de las larvas, sigue siendo uno de los puntos centrales en la investigación, el conocer el contenido y partición de las reservas energéticas durante el ciclo reproductivo de *P. mazatlanica* permitirá identificar los momentos en que la calidad tanto de la gónada como de los tejidos somáticos sea óptima. Con lo anterior se podrán establecer criterios de calidad de los tejidos germinales y somáticos, con lo que se contribuirá en la comprensión de la respuesta de los organismos acondicionados en laboratorio para producir semilla, así como para determinar sus requerimientos nutricios en términos de carbohidratos (glucógeno) y lípidos (triglicéridos). De ahí la importancia del presente estudio.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Historia de la pesquería de perlas y situación actual del cultivo de ostras perleras.**

La industria perlera representa una actividad con un potencial significativo para el desarrollo económico de comunidades costeras, ya que se requiere un capital de inversión pequeño en comparación con los beneficios retribuidos a los granjeros, a las mismas comunidades costeras y a la economía nacional (Gervis y Sims, 1992). Por ello, a nivel mundial la industria perlera actualmente se considera una actividad acuicultural muy rentable, no solo en lo que se refiere al cultivo de ostras perleras (nacaricultura), sino al cultivo de perlas (perlicultura) en particular (Monteforte, 1996; Gervis y Sims, 1992). En los principales países productores como Australia, Japón y Polinesia francesa, la producción y exportación de productos perleros de alto valor agregado, es considerable y desempeña un papel primordial en los aspectos político, social, cultural y económico de tales regiones (Fassler, 1991; 1995; Gervis y Sims, 1992). A nivel global, la perlicultura representa un mercado lucrativo y bien establecido cuyo valor de venta se estima en alrededor de 5 mdd al año (Fassler, 1997; Acosta-Salmón, 2004).

En algunos de estos países con tradición perlera (Japón, Australia, Polinesia Francesa), la perlicultura comercial se ha sustentado en la colecta de semilla del medio natural y/o la extracción controlada de adultos de los bancos naturales (Gervis y Sims, 1992; Southgate y Beer, 1997; Monteforte y Morales-Muhlia, 2000). Por el contrario, en otros países como Indonesia, el cultivo en laboratorio ha tomado más importancia para el aseguramiento de organismos

para las actividades de perlicultura (Rose y Baker, 1994; Southgate y Beer, 1997). A su vez, el cultivo en laboratorio se ha abordado con bastante éxito desde la década de los 1980's en la India, utilizando a la menor en talla de las especies de ostras perleras, *P. fucata* (Alagarswami *et al.*, 1983, 1989). La investigación realizada con esta especie permitió incluso el escalamiento piloto de la tecnología y su transferencia hacia el sector productivo (Dharmaraj *et al.*, 1991; Victor *et al.*, 1995). La producción de semilla en laboratorio también se ha realizado de manera continua y controlada con las otras especies de ostras perleras, como *P. maxima* (Rose y Baker, 1994), *P. margaritifera* (Southgate y Beer, 1997; Taylor, 1999; Doroudi *et al.*, 1999; Southgate *et al.*, 1998a, b; Martínez-Fernández *et al.*, 2003) y más recientemente con *P. mazatlanica* (Saucedo *et al.*, 2005; Saucedo *et al.*, 2007). De estos estudios se desprende que la formación de la larva trocófora transcurre entre 4 y 18-24 hrs después de la fertilización de los gametos, estando el tiempo exacto relacionado con las condiciones ambientales, particularmente variaciones en la temperatura del agua y densidad de siembra; y que la fijación de la semilla ocurre cerca del día 21 y 24.

En el Pacífico americano la industria perlera no está establecida, aunque podría volver a cobrar importancia debido a que en estos lugares se encuentran dos especies de ostras perleras, la madreperla *P. mazatlanica* (Hanley, 1856) y la concha nácar *P. sterna* (Gould, 1851). Ello comprende desde el Golfo de California, México, hasta Perú (Sevilla, 1969; Keen, 1979; Gervis y Sims, 1992). Ambas especies presentan importantes perspectivas de desarrollo acuicultural y un considerable adelanto tecnológico en lo que se

refiere a técnicas de colecta de semilla y cultivo en campo, así como producción en laboratorio y formación de medias perlas de alta calidad (Monteforte, 1990, 1996; Cariño y Monteforte, 1999; Kiefert *et al.*, 2004). Sin embargo, la situación actual de los bancos naturales no es muy alentadora, debido a que las ostras perleras son un recurso que se ha sobreexplotado en el Golfo de California durante más de 400 años (Monteforte y Cariño, 1992; Cariño y Monteforte, 1995). La explotación intensiva y descontrolada de ambas especies produjo para 1938 que las poblaciones naturales de estas especies fueran consideradas en peligro de desaparición. Ante tal situación, se promulgó un decreto bajo el cual *P. mazatlanica* y *P. sterna* son consideradas *especies bajo protección especial*, categoría que continúa vigente (Diario Oficial de la Federación, 1994). De esta manera, entre 1939 y 1989 surgieron varios proyectos encaminados a restablecer el cultivo de *P. mazatlanica* y *P. sterna* (Cariño y Monteforte, 1999); sin embargo, aún cuando en las últimas décadas se han logrado avances en materia de cultivo extensivo de ambas especies (colecta de semilla del medio natural, preengorda de juveniles, cultivo en campo de adultos hasta la talla comercial óptima para injerto), no se ha conseguido implementar una tecnología adecuada para la producción intensiva de semilla de *P. mazatlanica* en laboratorio (Saucedo, 2001; Monteforte, 1990, 1996). Aunque la investigación al respecto data desde finales de la década de los 80's, los avances más consistentes se han logrado recientemente (2004) y los resultados preliminares indican que la especie responde de manera diferente a las técnicas de manejo y maduración definidas para otros bivalvos (e.g. Ostreidae y Pectinidae) (Saucedo, 2001). Por ello, es necesario realizar

investigaciones sobre los requerimientos nutricionales y fisiológicos de los reproductores de *P. mazatlanica* de manera que se puedan asegurar el desarrollo larvario, fijación y producción de semilla en laboratorio.

A la fecha existe un grado de adelanto científico y tecnológico significativo en materia de evaluación de las poblaciones naturales (Monteforte y Cariño, 1992), repoblamiento de bancos naturales (Saucedo y Monteforte, 1997), colecta experimental y masiva de semilla del medio (Cáceres-Martínez *et al.*, 1992; Monteforte y García-Gasca, 1994; Monteforte *et al.*, 1995), preengorda temprana de juveniles (Aldana-Avilés, 1998; Monteforte y Morales-Muhlia, 2000), cultivo tardío de adultos hasta talla comercial (Gaytán-Mondragón *et al.*, 1993; Monteforte *et al.*, 2005), producción de medias perlas a nivel piloto (Monteforte *et al.*, 1994; Monteforte *et al.*, 1996), así como de otros aspectos relacionados con la ecología de la colecta y el cultivo (Wright-López, 1997; Bervera-León, 2002). Este adelanto científico ha permitido definir un paquete tecnológico eficiente sobre cultivo extensivo y producción de mabés que es susceptible de ser transferido al sector productivo del país o el extranjero (Monteforte, 1996).

## **2.2. Ciclos de síntesis, partición y uso de reservas energéticas en moluscos bivalvos y ostras perleras.**

Desde décadas atrás, se sugirió que en varias especies de invertebrados marinos, incluyendo moluscos bivalvos, los cambios en el contenido energético de tejidos especializados (e. g. gónada, glándula digestiva, manto y músculo) siguen un patrón de temporalidad o estacionalidad de los principales eventos

del ciclo reproductivo y, según ciertas características latitudinales y del hábitat, cada especie desarrolla estrategias de adaptación para asimilar la energía disponible (Giese y Pearse, 1979; Barber y Blake, 1981, 1991). Una vez obtenida, ésta puede ser utilizada ya sea para mantenimiento de la maquinaria celular; crecimiento somático y/o reproducción (Barber y Blake, 1981). Existen muchos estudios de este tipo y todos coinciden en que los ciclos de almacenamiento y utilización de las reservas energéticas están relacionados con la actividad reproductora. Como se mencionó en la introducción, estos estudios se han realizado en especies de importancia comercial (e. g. pectínidos, mitílidos y ostréidos) (Sastry y Blake, 1971; Barber y Blake, 1981, 1983, 1991; Robinson *et al.*, 1981; Epp *et al.*, 1988; Couturier y Newkirk, 1991; Besnard, 1991; Martínez y Mettifogo, 1998; Racotta *et al.*, 1998; Lodeiros *et al.*, 2001; Arellano-Martínez *et al.*, 2004; Gabbott, 1975, 1976, 1983; Bayne, 1976; Kang *et al.*, 2000).

En Ptéridos (ostras perleras) son pocos los estudios referentes a las rutas metabólicas de los ciclos de síntesis, almacenamiento y uso de las reservas energéticas durante la reproducción. En *P. sterna* el trabajo más reciente lo realizó Cáceres-Puig (2007), quien empleó herramientas de estereología y calorimetría para estudiar el esfuerzo reproductivo de la especie, así como la relación entre el volumen de los tejidos somáticos (glándula digestiva, músculo aductor y manto) y su contenido energético total (no expresado como mg/g) a lo largo de un ciclo anual. El autor encontró que el músculo aductor y la glándula digestiva son los tejidos somáticos con mayor aporte energético (esfuerzo reproductivo) hacia la gametogénesis. El manto posee poca

importancia en este sentido. Asimismo, el autor recomienda que los injertos para la formación de perlas se realicen al inicio de otoño y durante primavera, ya que en estas estaciones el desarrollo gonadal se realiza a partir de la energía previamente almacenada en tejidos somáticos durante el invierno, mientras que el desarrollo de la gónada en primavera se realiza a partir de la energía que se obtiene directamente del alimento ingerido.

En *P. mazatlanica*, Saucedo *et al.* (2002a, b) describieron los cambios estacionales en las reservas energéticas contenidas en la gónada y tejidos somáticos especializados en el almacenamiento de energía. Se sabe que el *músculo aductor* es el sitio más importante de almacenamiento de carbohidratos y proteínas, mismos que son transferidos a la gónada diferencialmente a lo largo del año (los carbohidratos durante el pico reproductivo de primavera y las proteínas durante el pico de verano). Por el contrario, la *glándula digestiva* actúa como un tejido secundario de almacenamiento de proteínas y lípidos. Las proteínas son utilizadas de manera inmediata durante la primavera y verano para sustentar el inicio del ciclo reproductivo; mientras que los lípidos y triglicéridos son almacenados durante un tiempo corto. Por su parte, la *gónada*, aunque no se le considera propiamente un compartimento de almacenamiento, es el sitio donde se encuentran las células germinales que son el blanco de la energía proveniente del músculo y glándula digestiva para iniciar el desarrollo gonadal. También se localizan algunas células somáticas alrededor de los acinos, las células vesiculares del tejido conectivo (VCT) y las células auxiliares. Los autores también describen por primera vez para una especie de ostra perlera el papel

del cuerpo de Balbiani como un reservorio intracelular de lípidos, los cuales son incorporados a los ovocitos durante la vitelogénesis (Saucedo *et al.*, 2002a). Con respecto al *manto*, no se reporta una participación importante en el proceso de gametogénesis.

Por su parte, Gómez-Robles *et al.* (2005) calcularon índices de lípidos y proteínas en ovocitos de *P. mazatlanica* durante la vitelogénesis, observando que el mayor contenido de lípidos en los ovocitos ocurre en invierno, cuando la especie almacena mayor reservas energéticas en sus tejidos, mismas que son movilizados hacia la gónada durante la gametogénesis. Por su parte, el mayor contenido de proteínas en los ovocitos se observó durante primavera en ovocitos vitelogénicos y en invierno en ovocitos postvitelogénicos, sugiriendo con esto que las proteínas son utilizadas de manera constante para generar energía durante la ovogénesis, confirmando así la movilización activa de las proteínas durante la primera mitad del ciclo reproductivo. Los autores observaron que la concentración tanto de lípidos como de proteínas en los ovocitos de *P. mazatlanica* es mayor durante invierno debido a que son más las reservas que se almacenan para el siguiente ciclo reproductivo que las que se utilizan en el ciclo en curso.

Vite-García y Saucedo (2008) estudiaron la dinámica de carbohidratos, lípidos y proteínas entre los diferentes tejidos relacionados con la gametogénesis, observando que en la gónada femenina ocurre un incremento significativo en los niveles de proteínas, lípidos y triglicéridos durante dos picos reproductivos (primavera y verano), particularmente en el primero, acompañado de un decremento en el contenido de proteínas del músculo aductor. Los

autores no encontraron afinidad por el almacenamiento de carbohidratos en ninguno de los tejidos estudiados. Este estudio confirmó lo observado por Saucedo *et al.* (2002a, b) respecto a que los niveles de glucógeno, proteínas, lípidos y triglicéridos en el manto son los más bajos a aquellos observados en los demás tejidos. De estos compuestos, ninguno mostró variaciones estacionales importantes durante la gametogénesis, excepto el glucógeno, confirmando así la poca participación del manto en el proceso de gametogénesis en esta especie.

Aún con lo mencionado anteriormente, no se ha podido esclarecer con detalle la dinámica de los ciclos de síntesis, almacenamiento y movilización de reservas durante el ciclo reproductivo de *P. mazatlanica*. Se desconocen aún muchos procesos y rutas que siguen las sustancias de reserva desde los tejidos de almacenamiento hacia la gónada durante la gametogénesis. Ello ha impedido establecer criterios precisos de calidad de tejidos y gametos en esta especie, así como la relación de éstos con los procesos de reproducción y viabilidad de larvas para la producción de semilla en condiciones controladas de laboratorio.

### **2.3. Biología reproductiva de bivalvos y ostras perleras.**

Desde décadas atrás, se ha mencionado que una parte fundamental de la reproducción de invertebrados marinos y la manera en que usan la energía tiene que ver precisamente con los costos energéticos asociados con la producción de gametos, ovocitos principalmente, son provistos por un suministro exógeno de alimento, una provisión endógena de reservas

almacenadas, o bien, una combinación de ambas estrategias (Epp *et al.*, 1989; Barber y Blake, 1991). Al respecto, Bayne (1976) estableció que según el uso y almacenamiento de energía para la gametogénesis los bivalvos marinos se podían clasificar en: 1) *especies conservadoras*, donde la gametogénesis se desarrolla a partir de la energía almacenada en tejidos somáticos (e. g. *Chlamys opercularis* y *Mytilus edulis*, Taylor y Venn, 1979; Gabbott, 1975); y 2) *especies oportunistas*, donde la gametogénesis ocurre cuando hay abundancia de fitoplancton (e. g. *Argopecten irradians concentricus*, *Ch. septemradiata*, *Ch. islandica* y *Pteria sterna*) (Ansell, 1974; Barber y Blake, 1983; Brokordt y Guderley, 2004; Vite-García y Saucedo, 2008). Por su parte, *A. irradians* (Sastry, 1979), *A. irradians irradians* (Barber y Blake, 1981), *Placopecten magellanicus* (Robinson *et al.*, 1981) y *P. mazatlanica* (Saucedo *et al.*, 2002a, b; Vite-García, 2005), son especies que combinan estrategias conservadoras y oportunistas, pues la gametogénesis es llevada a cabo de las reservas almacenadas y el suministro de alimento. Aunque se ha discutido sobre la contribución relativa entre la toma de alimento del medio vs las reservas almacenadas, no se ha establecido un patrón claro en este sentido, dado que estos procesos dependen de interacciones complejas entre factores endógenos y exógenos.

La biología reproductiva del género *Pinctada* ha sido bien documentada histológicamente desde los años cincuenta en varias regiones del mundo (Tranter, 1958a, b, c, d; 1959; Sevilla, 1969; Rose *et al.*, 1991; Behzadi *et al.*, 1997; García-Domínguez *et al.*, 1996; Arizmendi-Castillo, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997; Saucedo *et al.*, 2002b). De estos estudios se desprende que

algunos aspectos del proceso reproductivo son comunes para todos los miembros del género. Por ejemplo, el ciclo reproductivo es continuo y sincrónico a lo largo del año, presentando un número variable de periodos de intensa actividad reproductiva y picos que se manifiestan claramente en ciertos momentos en función de diferencias en la distribución latitudinal y hábitat entre especies y entre poblaciones de la misma especie (Saucedo y Southgate, 2008).

Se trata de organismos gonocóricos, lo que significa que presentan sexos separados. Presentan hermafroditismo protándrico, es decir, el sexo de primera madurez es el masculino y el cambio al sexo femenino ocurre a cierta talla-adulta, en respuesta a la interacción de factores endógenos y variaciones en las condiciones ambientales, tanto en las poblaciones naturales como en los organismos en cultivo. En el primer caso, organismos de la población silvestre, el cambio de sexo puede ocurrir en respuesta a muchos factores, principalmente daño fisiológico y estrés nutricional, fouling excesivo, desoves parciales y/o recuperación de la gónada después de dichos desove. En el segundo caso, organismos mantenidos en cultivo, la explicación más factible del cambio de sexo es la siembra a densidades muy altas, lo que provoca también estrés fisiológico en los organismos y el re-direccionamiento de la energía hacia la producción del sexo que es energéticamente menos costoso, el masculino (Saucedo y Southgate, 2008). La condición opuesta, protoginia, no es común aunque Tranter (1959) y recientemente Saucedo *et al.* (2002b) describieron el cambio de hembra a macho. Esta inusual expresión

posiblemente sea resultado de los mismos factores que ocasionan el cambio de sexo.

La proporción sexual macho:hembra tiende a ser 1:1 en condiciones naturales (Sevilla, 1969; Gervis y Sims, 1992; Saucedo, 2001), aunque esta proporción no es del todo real, ya que en condiciones de cultivo, cuando hay un sobrepoblamiento de ostras, puede ocurrir que: (1) las gónadas en estadio de indiferenciación dominen sobre aquellas que podrían encontrarse en desarrollo activo o (2) que los machos, independientemente de la talla y la edad, superen en número a las hembras (Saucedo y Southgate, 2008).

#### **2.4. Indicadores de calidad de tejidos, gametos y/o larvas.**

Existen muchos estudios referentes a la importancia que reviste el estado físico general de los organismos que se encuentran maduros (condición reproductiva), la cantidad de energía destinada a los gametos (esfuerzo reproductivo) y la supervivencia larval (éxito reproductivo) (Gabbott, 1975; Holland, 1978; Desai *et al.*, 1979; Lannan *et al.*, 1980; Barber y Blake, 1981; Robinson *et al.*, 1981; Bayne *et al.*, 1982; Gallagher y Mann, 1986; MacDonald y Thompson, 1986; Gallagher *et al.*, 1986; MacDonald *et al.*, 1987; Epp *et al.*, 1988; Barber y Blake, 1991; Couturier y Newkirk, 1991; Faveris y Lubet, 1991; Paulet y Boucher, 1991; Martínez y Mettifogo, 1998; Leonardos y Lucas, 2000; Le Pennec *et al.*, 1998; Lango-Reynoso *et al.*, 2000; Kang *et al.*, 2000; Lodeiros *et al.*, 2001; Saucedo *et al.*, 2002a; Racotta *et al.*, 2003; Arellano-Martínez, 2004). En las gónadas femeninas, la acumulación de lípidos durante la vitelogénesis es primordial debido a que la cantidad y calidad del vitelo

aseguran un adecuado suministro energético en los gametos (ovocitos principalmente) y, por consiguiente, en el desarrollo larvario (Holland, 1978; Fraser, 1989). Ello debido a que en los moluscos bivalvos la mayoría de las larvas presentan un desarrollo lecitotrófico y las primeras etapas de desarrollo depende de las reservas energéticas existentes en el vitelo del huevo (Holland, 1978; Bayne y Newel, 1983; Palacios *et al.*, 2007; Palacios *et al.*, 2005). De estas reservas, son los lípidos precisamente los principales reservas acumuladas durante la vitelogénesis y el desarrollo larvario (Racotta *et al.*, 2003). Los triglicéridos y ácidos grasos, de todos los lípidos, son de primordial importancia puesto que están relacionados con la condición fisiológica de las larvas cuando éstas, bajo condiciones de estrés, son incapaces de obtener suficientes reservas energéticas del medio (Fraser, 1989; Gallagher y Mann, 1986; Gallagher *et al.*, 1986).

Gallagher *et al.* (1986) reportaron para *Mercenaria mercenaria*, *Crassostrea gigas* y *Ostrea edulis* que una alta supervivencia larvaria estaba relacionada con altos niveles de lípidos sugiriendo el uso de un índice lipídico como indicador de condición fisiológica y potencial para una metamorfosis exitosa. Entre los lípidos, los autores confirmaron la importancia de los triglicéridos durante los primeros estadios larvarios, dada la partición de estos componentes en la conversión energética durante la embriogénesis y primeras etapas larvarias. Ante la evidente importancia que juegan los lípidos durante la gametogénesis, el desarrollo embrionario y larvario, los autores cuantificaron estos elementos de reserva para utilizarlos como un indicador de la condición fisiológica de estas especies.

Por su parte, Fraser (1989) menciona que la vida larvaria temprana en muchos organismos marinos está caracterizada por la total dependencia hacia las reservas endógenas –puesto que bajo estrés ambiental son incapaces de obtener energía suficiente a partir de fuentes exógenas (alimento)- y que la mayoría de dichas reservas es en forma de triglicéridos. El almacenamiento de triglicéridos es de particular importancia dada la correlación que existe entre éstos y la condición larvaria. Sin embargo, se debe tener precaución al hacer esta aseveración puesto que el contenido absoluto de triglicéridos en una larva depende del tamaño de ésta. Con su estudio, el autor propone determinar un índice de condición fisiológica de peces, bivalvos y crustáceos basado en la composición lipídica de los huevos y larvas.

De esta manera, el índice lipídico ha sido un indicador de la calidad ovocitaria, la cual es definida como la capacidad o potencial de éstos para desarrollar larvas viables. La determinación de este índice lipídico se ha realizado por medios bioquímicos, no solo en gónadas femeninas, sino también en los tejidos especializados que participan en los ciclos de partición y uso de reservas energéticas. Además de los lípidos, varios autores han determinado el contenido de carbohidratos y proteínas en tejidos germinales y somáticos. Recientemente, Rodríguez-Jaramillo (2004) y Gómez-Robles *et al.* (2005) usaron el índice lipídico como indicador de calidad ovocitaria en *Atrina maura* y *P. mazatlanica*, respectivamente, usando histoquímica cuantitativa y análisis digital de imágenes.

Robinson *et al.* (1981) estudiaron las variaciones estacionales en lípidos, glucógeno y proteínas contenidas en los tejidos somáticos (e. g. glándula

digestiva, músculo aductor) de *P. magellanicus*. Los autores calcularon los índices de masa gonadal (IMG), de glándula digestiva (IGD) y de músculo aductor (IMA), observando que las concentraciones de lípidos y carbohidratos son inversamente proporcionales al peso y contenido de reservas en gónada, glándula digestiva y músculo aductor tejidos, y que son usadas diferencialmente a lo largo de un ciclo reproductivo. Con estos índices, los autores demostraron que el desarrollo gonadal ocurría con mayor intensidad en función de los niveles de lípidos y carbohidratos contenidos en glándula digestiva y músculo aductor, principalmente.

Arellano-Martínez *et al.* (2004) también determinaron índices gonadosomático, de glándula digestiva, músculo aductor y manto, así como la composición bioquímica (proteínas, carbohidratos totales, lípidos totales y acilglicéridos) de éstos en la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. Los autores observaron que la composición bioquímica de los tejidos somáticos varía diferencialmente en el tiempo y que está íntimamente relacionada con la actividad reproductora, tal como ocurre en otras especies de invertebrados marinos. Con esto, se comprobó que la relación entre los índices de tejidos somáticos y el desarrollo gonadal es un indicador de los patrones de uso y almacenamiento de reservas, tal como lo habían sugerido décadas atrás Barber y Blake (1981, 1983). Sin embargo, existen excepciones en donde la energía usada para sustentar la gametogénesis no es proporcionada por las reservas almacenadas en los compartimentos somáticos sino por el alimento suministrado (Enríquez-Díaz, 2000).

De lo mencionado anteriormente, se desprende que los índices de tejidos somáticos y germinales han sido empleados meramente como un estimador de su contenido energético, así como para esclarecer la utilización de dicha energía para satisfacer las demandas metabólicas de la gametogénesis.

### 3. JUSTIFICACIÓN

En México, el principal obstáculo para el establecimiento de una industria perlera es un abasto insuficiente de semilla para sustentar las operaciones de perlicultura. Si bien en la región Noroeste del país existen dos granjas perleras que cultivan la concha nácar *P. sterna* a escala comercial (Perlas Únicas S.A. de C.V., en Guaymas, Sonora) y a escala piloto la madreperla *P. mazatlanica*, (Perlas del Cortez S. de R.L. MI., en Bahía de La Paz), ninguna de ellas ha logrado asegurar el abasto de efectivos para escalar comercialmente el cultivo de ostras perleras y perlas (Kiefert *et al.*, 2004; Cáceres-Puig, 2007). Lo anterior se debe a lo errático e incierto que representa la obtención de semilla, ya sea del medio natural (debido a la presencia de fenómenos oceanográficos como El Niño o La Niña), así como en condiciones de cautiverio (dado que este tipo de estudios son aún recientes; Saucedo *et al.*, 2005; Saucedo *et al.*, 2007). Por ello, queda claro que la etapa de larvicultura representa el cuello de botella más importante para el control de la reproducción en cautiverio. Dicho cuello de botella es, a su vez, consecuencia de diversos problemas, de los cuales se identifican tres principales: (1) El desconocimiento que existe aún sobre diversos aspectos de la fisiología reproductiva de la especie; (2) La limitante de obtener reproductores maduros del medio natural únicamente durante una corta temporada del año (dos o tres meses), dada la distribución de la especie en una zona de transición entre los ambientes tropical y templado; y (3) La poca seguridad de obtener gametos viables y larvas sanas durante los desoves inducidos en laboratorio, aún cuando los adultos sean recolectados maduros del medio natural durante su temporada reproductiva. Este último problema es

quizá el más grave de todos, pues refleja el grado de desconocimiento que se tiene sobre la condición de los reproductores (= calidad de gónadas) y su influencia en el éxito de las subsiguientes etapas del desarrollo embrionario y larvario. Hasta ahora, la teoría para el caso de los moluscos bivalvos establece que una pobre condición de reproductores se traducirá en gametos de mala calidad (particularmente ovocitos), los cuales producirán a su vez larvas poco viables e incapaces de alcanzar la metamorfosis y fijarse. Por el contrario, una óptima condición de reproductores generará gametos de buena calidad y larvas sanas y fuertes con potencial de completar su desarrollo y alcanzar la metamorfosis y la fijación (Gallager y Mann, 1986; Gallager *et al.*, 1986; Fraser, 1989; Le Pennec *et al.*, 1990). Para el caso particular de la madreperla, si bien se conoce desde tiempo atrás el ciclo reproductivo general de la especie (ver sección de antecedentes), apenas recientemente se comenzaron a estudiar los ciclos de utilización de energía entre los diversos tejidos que participan en la gametogénesis (Saucedo *et al.*, 2002a; Vite-García y Saucedo, 2008). Sin embargo, se carece por completo de criterios que permitan estimar de manera confiable la condición fisiológica de los reproductores y la calidad de gametos (ovocitos en particular) y otros tejidos somáticos que participan durante las diferentes fases del ciclo gametogénico. Hacer todo esto al corto plazo reviste la mayor importancia, pues permitirá identificar momentos óptimos, aceptables o sub-óptimos para la utilización de reproductores para experimentos de larvicultura y producción de semilla.

## **4. HIPÓTESIS**

### **4.1. General**

Si la condición de los reproductores y la calidad de los gametos (ovocitos) está relacionada con su composición celular, y ésta a su vez con la dinámica del ambiente, entonces la definición de criterios de calidad que tomen en cuenta estos aspectos permitirá identificar los momentos energéticamente óptimos, así como los no adecuados, para la utilización de los reproductores en actividades de larvicultura y producción de semilla de la madreperla *P. mazatlanica* en el laboratorio.

### **4.2. Particulares**

- La condición fisiológica de los reproductores y la calidad de las gónadas variará en las diferentes etapas de su ciclo reproductivo.
- La relación entre el índice de tejido gonadal y el índice de glándula digestiva y músculo aductor será inversamente proporcional.
- El índice lipídico y glucídico serán indicadores confiables de calidad de tejidos y de gametos (ovocitos).

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. Objetivo General**

Evaluar la utilidad de diferentes indicadores cualitativos y cuantitativos de calidad de tejidos y gametos en la madreperla *P. mazatlanica* durante un ciclo reproductivo anual, estableciendo la relación de dichos indicadores con la dinámica ambiental.

### **5.2. Objetivos particulares**

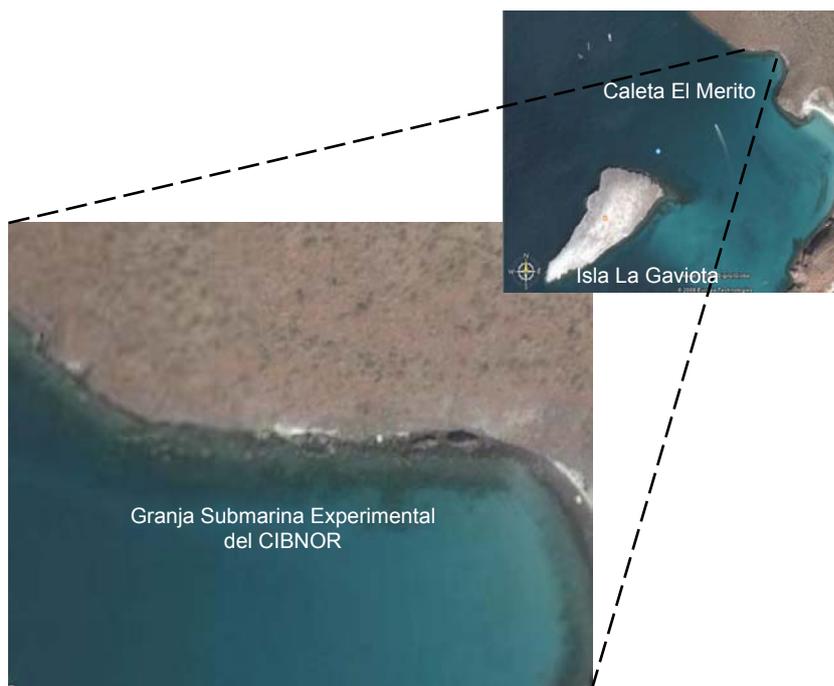
- Evaluar el efecto de la temperatura y la concentración de clorofila *a* del agua de mar sobre la biología reproductiva de la especie.
- Describir la temporalidad de los principales eventos reproductivos del ciclo 2005-2006 de la especie.
- Determinar las variaciones en el índice de tejido gonadal (masculino y femenino), índice de glándula digestiva e índice muscular de la especie durante el ciclo reproductivo 2005-2006.
- Estudiar las variaciones en el contenido de carbohidratos y lípidos de las gónadas femenina y masculina, glándula digestiva y músculo aductor de la especie durante el ciclo reproductivo 2005-2006.
- Establecer la relación entre los tejidos somáticos y la gónada de la especie en cuanto al almacenamiento y uso de la energía durante la gametogénesis.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Recolecta y disección de especímenes.

Durante el periodo 2005–2006 se realizaron muestreo estacionales que coincidieron con los meses de octubre de 2005 (otoño 2005) y febrero, mayo, agosto y noviembre de 2006 (invierno, primavera, verano, otoño 2006). No se realizaron muestreos más frecuentes (e. g. mensuales, bimestrales) por tres razones principales. (1) La madreperla está protegida por las leyes Mexicanas por ser una “Especie Sujeta a Protección Especial”, de acuerdo a la NOM-059-ECOL-1994, publicada en el Diario Oficial de La Federación en 1994. Ello limitaba el número de organismos disponibles para experimentación; (2) El ciclo reproductivo, así como los patrones generales de la reproducción, de la especie para la zona de Bahía de La Paz están muy bien estudiados y conocidos (Sevilla, 1969; García-Domínguez *et al.*, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997; Saucedo *et al.*, 2002a, b; García-Cuellar *et al.*, 2004; Vite-García, 2005); y (3) En función de los dos puntos anteriores, se consideró que un estudio estacional de la reproducción de la especie, en el cual sólo se confirmaría la temporalidad de los principales eventos reproductivos, no afectaría la evaluación de los criterios de calidad de tejidos y gametos.

En cada muestreo estacional se recolectaron 15 especímenes adultos de *P. mazatlanica* ( $114 \pm 2.5$  mm de altura de la concha), provenientes de la Granja Experimental Submarina del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), localizada en Caleta El Merito, Bahía de La Paz, B. C. S. ( $24^{\circ}$ ,  $16'$  N;  $110^{\circ}$ ,  $19'$  W) (Fig. 2).



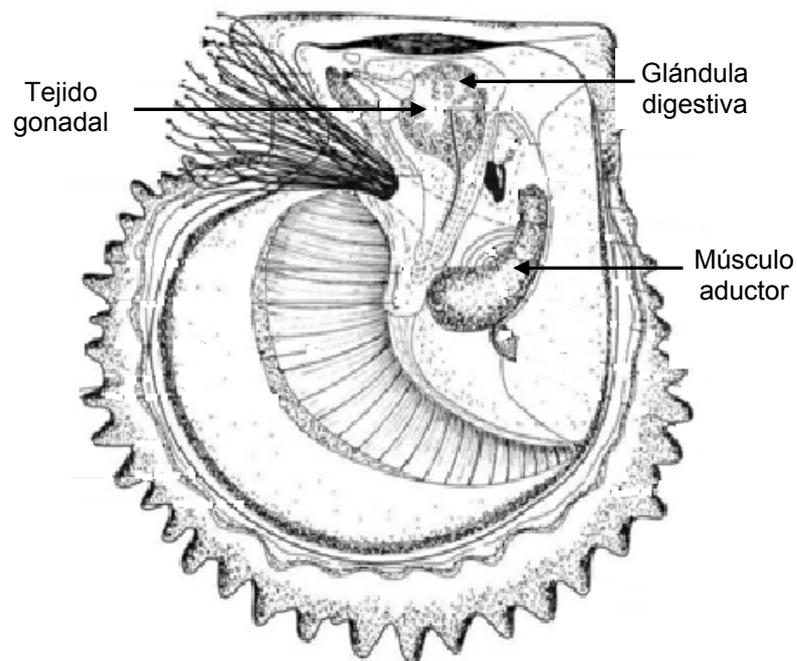
**Figura 2.** Localización del área de estudio dentro de la Bahía de La Paz.

Paralelo a la recolecta de las ostras, se registró la temperatura de fondo del agua de mar en la zona de estudio (con la ayuda de un termómetro de cubeta de 0.1 °C) y la salinidad de la misma (mediante un refractómetro Vee Gee de 0.1 UPS). Igualmente, se tomaron muestras de 3 L de agua marina, las cuales se filtraron directamente sobre filtros Whatman GF/C (47 mm) previamente lavados con agua destilada y posteriormente se secaron en una estufa a 100 °C, se quemaron en una mufla a 450°C por 4 horas (para eliminar toda la materia orgánica) y se pesaron en una balanza analítica (0.001 g). Finalmente, las muestras se procesaron en el Laboratorio de Pigmentos del CIBNOR para la determinación de clorofila a (ng/L), de acuerdo al protocolo de Vidussi *et al.* (1996).

Los especímenes recolectados fueron trasladados al Laboratorio de Ecofisiología de Invertebrados Marinos del CIBNOR, en donde fueron limpiados de organismos epibiontes (*fouling*), medidos con vernier digital Mitutoyo (0.1 mm), pesados en fresco con todo y concha en una balanza Ohaus (0.1 g) y disectados *in vivo*. Posteriormente, se registró el peso de la masa visceral o carne (0.1 g) y del músculo aductor (0.1 g). Hecho esto, se procedió a la extracción de muestras de la gónada, glándula digestiva y músculo aductor (Fig. 3). Una muestra de la gónada se fijó en solución Davidson durante 48 h (Anexo A) y se procesó histológicamente para describir el ciclo reproductivo de los organismos durante el ciclo 2005-2006 (Sección 6.2). Una segunda muestra de gónada, junto con las correspondientes a la glándula digestiva y músculo se fijaron en solución Davidson y se procesaron.

## **6.2. Análisis cualitativos (histológicos) y cuantitativos (histoquímicos).**

Para describir el ciclo reproductivo se procesaron muestras de gónada siguiendo la técnica histológica propuesta por Howard y Smith (1983) (Anexo B). Se realizaron cortes de 5 $\mu$ m a lo largo del eje antero-posterior con microtomo de rotación (Leica RM 2155), las cuales se tiñeron con hematoxilina-eosina (H-E) (Anexo C) (Humason, 1979) y se observaron con microscopio compuesto (Olympus BX 41) en aumentos de 20X, 40X, 60X y 100X.



**Figura 3.** Valva derecha de *Pinctada mazatlanica* mostrando los tejidos disectados. Tomada de Saucedo y Southgate (2008).

Para determinar la proporción sexual (machos: hembras), se contabilizaron hembras, machos, organismos indiferenciados sexualmente y hermafroditas. Se dividió el número de cada estadio sexual entre el número total de organismos por 100.

Se determinaron los estadios de desarrollo gonadal siguiendo la clasificación para ostras perleras propuesta inicialmente por Tranter (1958a, b) con algunas modificaciones en el número de estadios empleados. En este estudio se adoptaron los siguientes estadios: (1) Indiferenciado, (2) Desarrollo, (3) Madurez, (4) Desove y (5) Post-desove. Información más detallada acerca de las características de cada uno de los estadios se puede consultar en

Sevilla (1969), Rose *et al.* (1991), García-Domínguez *et al.* (1996), Saucedo y Monteforte (1997) y Saucedo *et al.* (2002b).

Para realizar las mediciones de contenido de lípidos y carbohidratos, las muestras de gónada, glándula digestiva y músculo se cortaron a 3  $\mu\text{m}$  de grosor a lo largo del eje antero-posterior con microtomo de rotación y posteriormente se tiñeron con Sudan negro B para lípidos (Anexo D) y Azul Alciano-PAS para carbohidratos (Anexo E).

### **6.3. Análisis digital de imágenes.**

Las laminillas histológicas fueron analizadas con un sistema de análisis digital de imágenes (ADI), el cual está integrado por un microscopio compuesto (Olympus BX41), una cámara digital (CoolSnap-Pro) y una computadora Pentium III cargada con el programa Image Pro Plus® (versión 5.1, Media Cybernetics, E.U.A.). Las imágenes digitalizadas se capturaron con el objetivo de 40X.

De cada tejido, por organismo, se capturaron tres campos visuales tomados al azar. Este procedimiento se repitió para cada tipo de análisis. Para todos los tejidos se delimitó la superficie de cada estructura a medir (e. g. ovocitos, túbulos seminíferos, adenómeros), lo cual se realizó definiendo su contorno de manera manual con el ratón de la computadora y el cursor en el monitor. Una vez definida la superficie, se seleccionó del analizador de imágenes la herramienta *segmentar* para calcular automáticamente el área ocupada por el elemento de interés (unidad expresada en  $\mu\text{m}^2$ ). La segmentación consiste en medir la concentración absorbida por el tejido a

través de una tinción aplicada, identificando el rango de tonalidades de color absorbida por la muestra (*rango dinámico*), tanto para el caso de Sudan Negro B (SNB) que identifica lípidos totales y triglicéridos y Azul Alciano PAS (AA-PAS) que identifica carbohidratos y mucinas. La unidad empleada en el analizador de imágenes para realizar este procedimiento es el *píxel*, así que se trata de una relación de píxeles absorbidos por la muestra.

En el caso de las tinciones con SNB, el programa sólo identificó los colores azul oscuro y negro, cuantificando, mediante la suma de píxeles, el área ocupada por estos tonos de color, correspondientes a los triglicéridos. Para el caso de las tinciones con AA-PAS, el programa identificó los colores azul, magenta y azul oscuro, cuantificando también mediante la suma de píxeles, el área ocupada por dichos tonos de color, correspondientes a mucopolisacáridos ácidos y neutros, sustancia cartilaginosa y mucina epitelial.

Paralelamente, con el analizador se calcularon el área ( $\mu\text{m}^2$ ), diámetro medio ( $\mu\text{m}$ ) y perímetro ( $\mu\text{m}^2$ ) de cada componente glucídico y lipídico identificados. A estas mediciones, denominados *atributos* de aquí en adelante, el analizador de imágenes les calculó automáticamente la sumatoria, media y desviación estándar. La sumatoria del área ocupada por dichos componentes, denominada *área de cobertura*, se empleó posteriormente para determinar indicadores de calidad denominados *índice glucídico (IG)* e *índice lipídico (IL)* para cada tejido analizado. El cálculo de dichos indicadores se detalla en las siguientes sub-secciones.

Todas las mediciones realizadas en los elementos de interés de cada tejido, tanto para carbohidratos como para lípidos, se registraron en hojas de cálculo en Excel®.

### **6.3.1. Gónada.**

Para determinar un cálculo “grueso” del contenido de carbohidratos y lípidos, las preparaciones histológicas se capturaron a 4x con un microscopio óptico y una cámara digital. Las imágenes resultantes fueron analizadas digitalmente segmentando el área de cobertura de carbohidratos y lípidos ocupados por las gónadas femenina y masculina. Con lo anterior se pudo calcular el índice de tejido gonadal (ITG), propuesto por Rodríguez-Jaramillo *et al.* (2006):

$$\text{ITG} = \text{Área de cobertura de la gónada} / \text{Área total de la imagen} * 100$$

En gónada femenina, primeramente, se calculó el área de 15 ovocitos por hembra, procediendo tal como se mencionó anteriormente. Después, se calculó el contenido de carbohidratos y lípidos contenidos en el ovoplasma de cada ovocito mediante el proceso de segmentación del analizador.

En segundo lugar, para estandarizar el diámetro de los ovocitos sin considerar la forma de éstos dentro de los folículos ováricos, se manejó el diámetro teórico ( $\mu\text{m}$ ) mediante la fórmula de la circunferencia propuesta por Saout *et al.* (1999):

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

donde,

$D_T$  = diámetro teórico

A = área

$\pi$  = 3.1416

A partir de los atributos calculados con el analizador, se determinaron el índice glucídico (IG) y el índice lipídico (IL) en gónada femenina:

$$\mathbf{IC = CCGF / AO * 100}$$

$$\mathbf{IL = CLGF / AO * 100}$$

donde,

CCGF = sumatoria del área de cobertura de gotas glucídicas en gónada femenina

CLGF = sumatoria del área de cobertura de gotas lipídicas en gónada femenina

AO = área del ovocito

Por su parte, en la gónada masculina se midió el área de los túbulos seminíferos ( $\mu\text{m}^2$ ) y se determinó el contenido tanto de lípidos como de carbohidratos. Con los atributos obtenidos a partir de estas mediciones se calcularon los índices glucídico y lipídico en gónada masculina:

$$\mathbf{IG = CGGM / AT * 100}$$

$$\mathbf{IL = CLGM / AT * 100}$$

donde,

CG = sumatoria del área de cobertura de gotas glucídicas en gónada masculina

CL = sumatoria del área de cobertura de gotas lipídicas en gónada masculina

AT = área del tubo seminífero

Los anteriores indicadores (índices lipídico y glucídico) son cálculos obtenidos a partir de los ovocitos de la gónada femenina y de los túbulos

seminíferos de la gónada masculina, respectivamente, representando así el contenido “fino” de carbohidratos y lípidos en estos.

### **6.3.2. Glándula digestiva.**

De la glándula digestiva se calculó el área de los adenómeros ( $\mu\text{m}^2$ ), así como el contenido de carbohidratos y lípidos contenidos en éstos. Se calcularon los índices glucídico y lipídico en glándula digestiva:

$$\text{IC} = \text{CGGD} / \text{AA} * 100$$

$$\text{IL} = \text{CLGD} / \text{AA} * 100$$

donde,

CG = sumatoria del área de cobertura de gotas glucídicas en glándula digestiva

CL = sumatoria del área de cobertura de gotas lipídicas en glándula digestiva

AA = área del adenómero

### **6.3.3. Músculo aductor.**

En el músculo aductor sólo se determinó el contenido de carbohidratos y lípidos utilizando los valores de peso fresco tomados previa disección. Con estos datos se calcularon los índices glucídico y lipídico del músculo:

$$\text{IG} = \text{CGMA} / \text{PMA}$$

$$\text{IL} = \text{CLMA} / \text{PMA}$$

donde,

CG = sumatoria del área de cobertura de gotas glucídicas en músculo aductor

CL = sumatoria del área de cobertura de gotas lipídicas en músculo aductor

PMA = peso fresco del músculo aductor

#### 6.4. Tratamiento estadístico.

Primeramente, se realizaron análisis de variancia (ANOVA) de una vía para detectar diferencias significativas en el área y diámetro teórico (DT) de ovocitos, área de túbulos seminíferos, área de adenómeros, índice glucídico e índice lipídico en gónada femenina, gónada masculina, glándula digestiva y músculo aductor con respecto al tiempo. En caso de ser necesario, se incluyeron pruebas *a posteriori* de comparación múltiple de rangos de Tukey para identificar grupos homogéneos o heterogéneos (Sokal y Rohlf, 1981). En todos los casos, el nivel de significancia se fijó a  $p < 0.05$ .

Posteriormente, se utilizaron análisis de correlación para medir el grado de intensidad de la relación entre algunas de las variables definidas anteriormente (índices de lípidos y carbohidratos, área de ovocitos, de túbulos seminíferos atributos y de adenómeros, atributos de cobertura). Debido a que algunos indicadores se expresaron en diferentes unidades, cuando fue necesario se realizaron transformaciones a *arco-seno* ( $p' = \arcsin\sqrt{p}$ ) para igualar las escalas de medición entre los indicadores a relacionar. Para corroborar la estrecha relación entre los indicadores, es decir cuando  $r$  se aproximara a 1, se aplicaron análisis de regresión lineal simple.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el programa STATISTICA® (vers. 7.0, StatSoft Inc., Oklahoma, E.U.A.).

## **7. RESULTADOS**

### **7.1. Efecto de los parámetros ambientales sobre el ciclo reproductivo.**

#### ***7.1.1. Temperatura.***

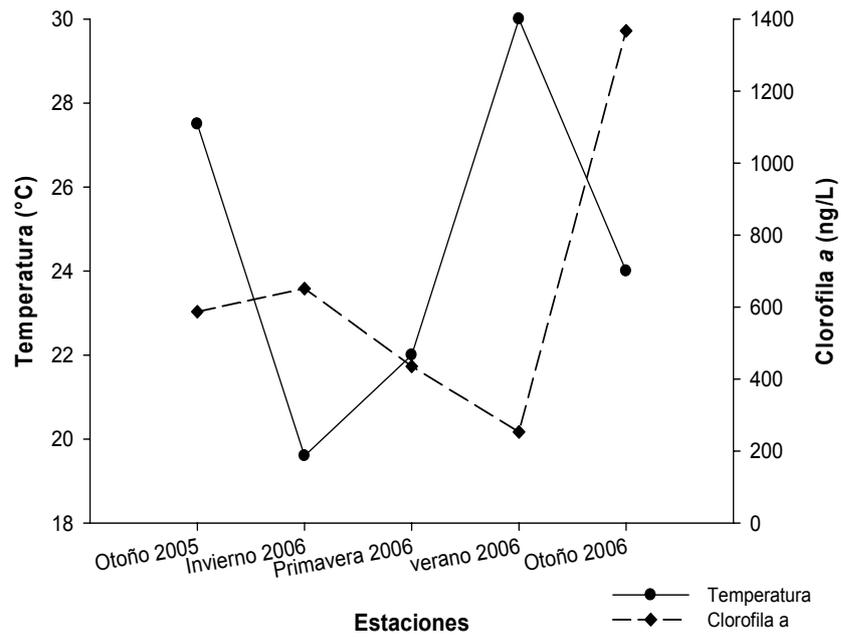
Las variaciones en la temperatura del agua durante el período de estudio se presentan en la Figura 4. A partir de otoño 2005 (27.5 °C), los valores fueron disminuyendo gradualmente hasta el promedio mínimo registrado en invierno 2006 (19.6 °C), seguido por un incremento gradual en la temperatura del agua alcanzando los 22 °C en primavera del mismo año.

A inicios de otoño de 2006 se presentó una variación importante en los valores promedios de temperatura, la cual siguió incrementándose hasta registrarse en verano el valor más elevado del período de estudio (30 °C).

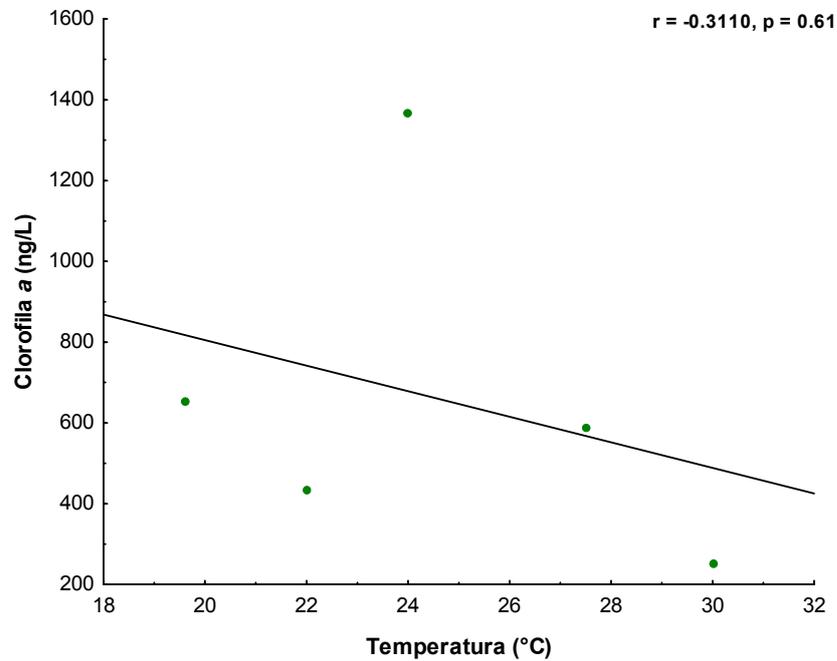
#### ***7.1.2. Concentración de Cl a.***

Los análisis de pigmentos fotosintéticos en el agua de mar señalaron una baja concentración de clorofila *a* en verano 2006 (253.3 ng/L), acompañada de una alta concentración en otoño del mismo año (1367.5 ng/L) (Fig. 4). Comparando el comportamiento entre los parámetros ambientales medidos, se observó una relación inversamente proporcional entre la temperatura más alta registrada durante el periodo de estudio (30 °C) y la concentración mínima de clorofila *a* (253.3 ng/ L) en verano de 2006 (Fig. 4).

La correlación encontrada entre temperatura del agua y concentración de clorofila *a* no fue significativa ( $p > 0.05$ ). Lo anterior se corroboró con una regresión lineal simple entre ambos factores, (Fig. 5).



**Figura 4.** Relación entre la temperatura del agua y la concentración de clorofila *a* en la zona de estudio durante el periodo 2005-2006.



**Figura 5.** Análisis de correlación entre la temperatura del agua de mar y la concentración de clorofila *a* durante 2005-2006.

## 7.2 Distribución de tallas y peso de los organismos.

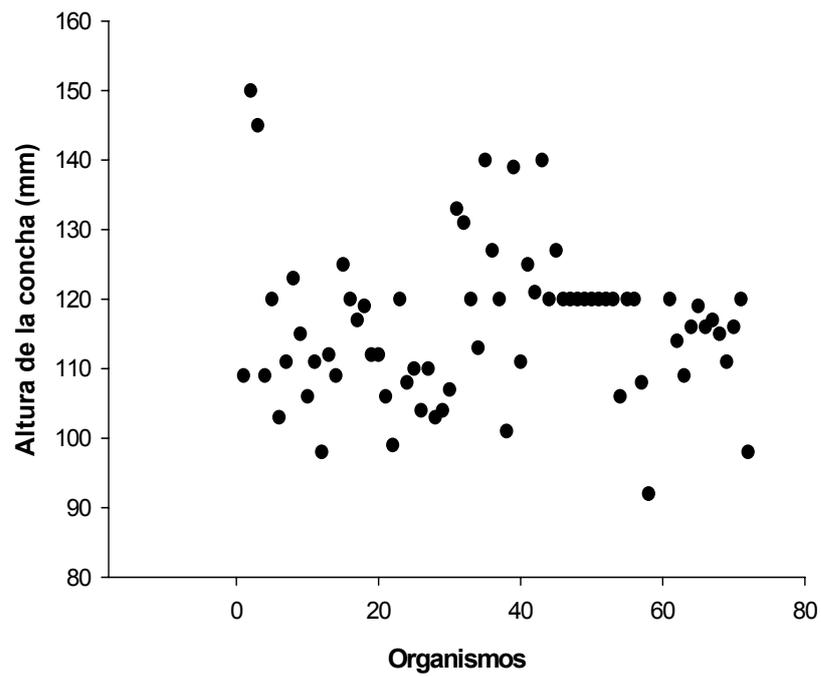
En la tabla II se presentan los datos de medidas morfométricas (altura de la concha, peso fresco con concha, peso músculo) de los organismos muestreados durante el periodo de estudio.

**Tabla II.** Medidas morfométricas de la madreperla *P. mazatlanica* durante el ciclo anual 2005-2006 (media  $\pm$  error estándar).

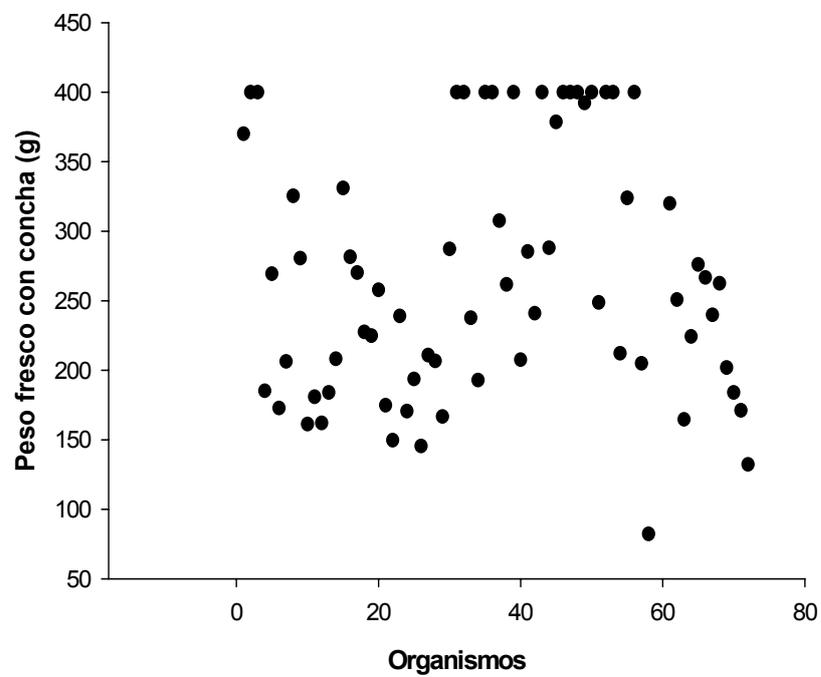
	Estación	Altura de la concha (mm)	Peso fresco con concha (g)	Peso masa visceral (g)	Peso músculo (g)
2005	Otoño	116.40 $\pm$ 3.81	233.62 $\pm$ 9.97	39.72 $\pm$ 3.61	9.26 $\pm$ 2.26
2006	Invierno	110.07 $\pm$ 2.57	213.77 $\pm$ 6.86	7.33 $\pm$ 1.67	9.67 $\pm$ 1.84
	Primavera	124.53 $\pm$ 3.35	320.03 $\pm$ 8.94	13.68 $\pm$ 2.25	16.01 $\pm$ 2.33
	Verano	115.85 $\pm$ 2.94	328.03 $\pm$ 10.31	798 $\pm$ 2.53	10.02 $\pm$ 2.36
	Otoño	105.92 $\pm$ 5.52	224.51 $\pm$ 7.40	4.39 $\pm$ 1.40	6.04 $\pm$ 1.46

Se observa que las mayores tallas se presentaron durante primavera 2006, mientras que las menores tallas en otoño 2006 (Fig. 6). Igualmente, los organismos de menor peso se registraron en invierno 2006; mientras que los de mayor peso se registraron en verano 2006 (Fig. 7).

Debe considerarse que muchos organismos, a la hora de la recolecta, suelen guardar agua en la cavidad paleal, lo cual puede generar mucha variación del peso total.

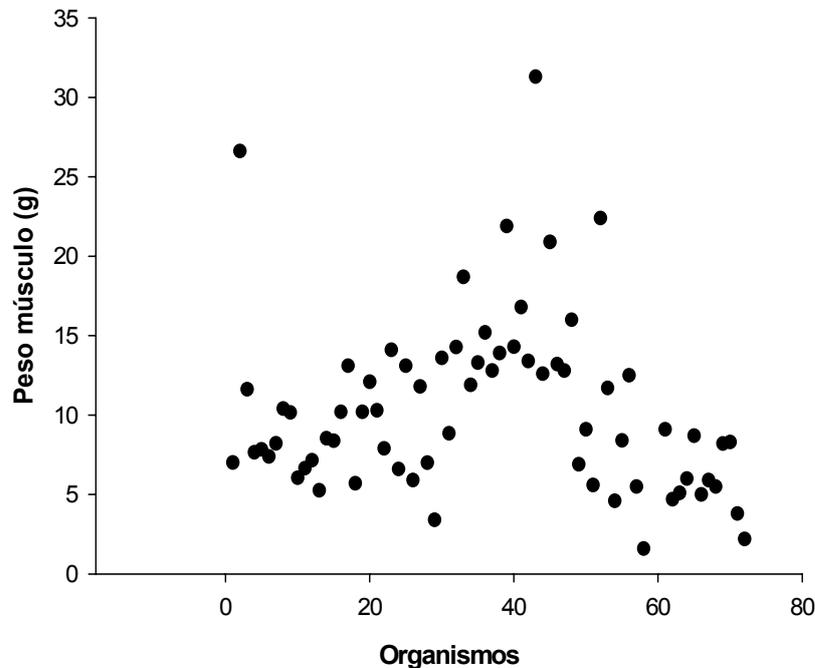


**Figura 6.** Distribución de tallas (altura de la concha, mm) de *P. mazatlanica* durante un ciclo anual.



**Figura 7.** Distribución en el peso fresco con concha (g) de *P. mazatlanica* durante un ciclo anual.

En la figura 8 se presentan las variaciones en la distribución de peso del músculo. Se observa que el peso mínimo y máximo del músculo aductor se registraron durante otoño y primavera de 2006.



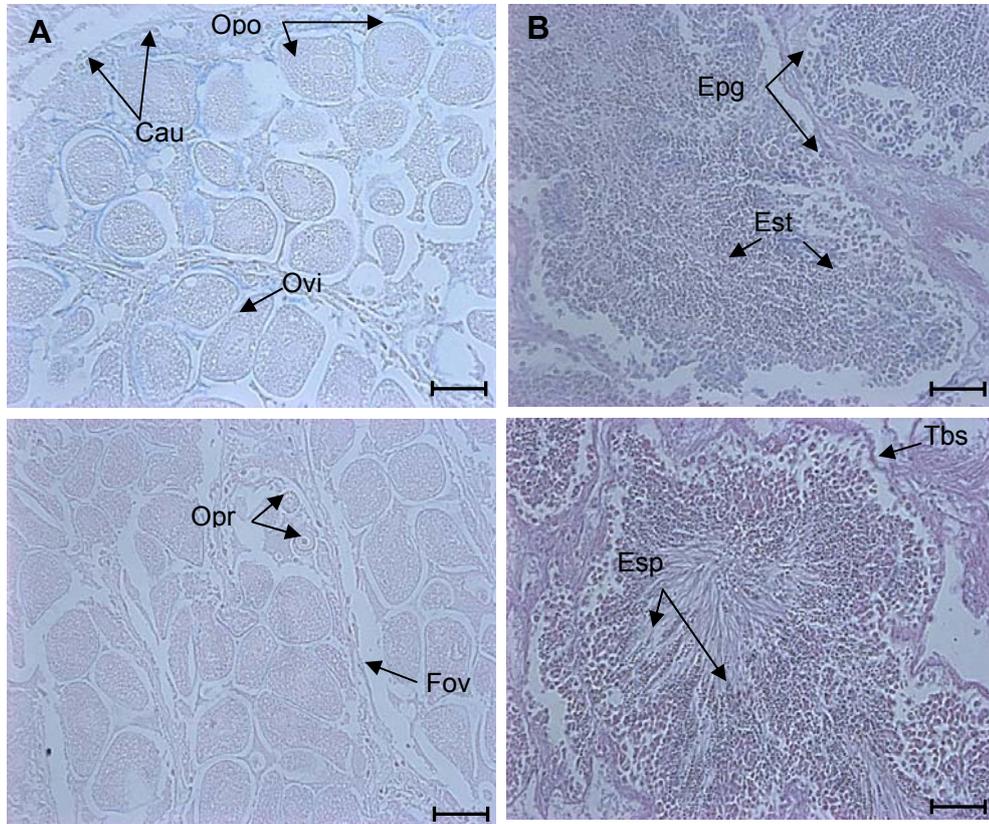
**Figura 8** Distribución en el peso del músculo aductor (g) de *P. mazatlanica* durante un ciclo anual.

### 7.3. Análisis cualitativos

#### 7.3.1. Ciclo reproductivo.

El ciclo reproductivo de *P. mazatlanica* durante el periodo 2005-2006 se presenta en la Figura 9. El análisis histológico reveló una incidencia importante de organismos en desarrollo (73.3%) durante otoño 2005, así como de individuos en etapa de indiferenciación sexual (26.7%), al registrarse una temperatura del agua de 27.5 °C. En invierno del mismo año (19.6 °C),

predominaron en su totalidad los organismos en etapa de desarrollo (100%) (Fig. 10).

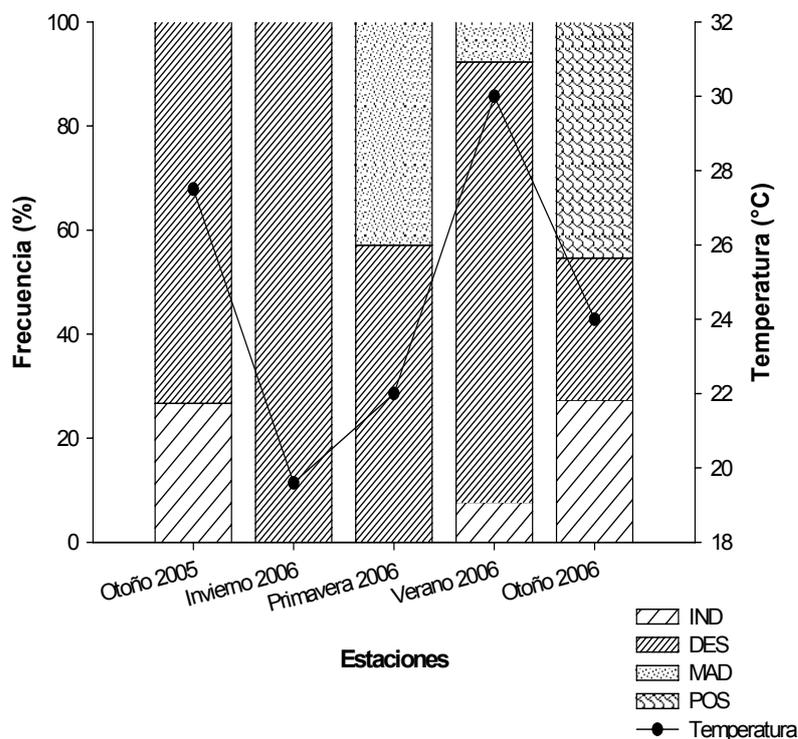


**Figura 9.** Microfotografía (40X) de un corte transversal de gónada (40x) de *P. mazatlanica* teñido con azul alciano-PAS, mostrando en hembras (A), los folículos ováricos (Fov), ovocitos previtelogénicos (Opr), ovocitos vitelogénicos (Ovi), ovocitos postvitelogénicos (Opo) y células auxiliares (Cau); en machos (B), se muestran túbulos seminíferos (Tbs), espermatogonias (Epg), espermatocitos (Est) y espermatozoides (Esp). Escala = 50  $\mu$ m.

En primavera 2006 (a una temperatura de 22 °C) se encontró un alto porcentaje de individuos en desarrollo (57.1%); el restante 42.9% correspondió a organismos maduros. En verano del mismo año (30 °C) se encontró que el 84.6% de los organismos se encontraba en desarrollo, mientras que el 7.7% en madurez. El restante porcentaje (7.7%) correspondió a organismos en

indiferenciación sexual. Por su parte, en otoño 2006 se observó que el 45.5% de los organismos se encontraban en postdesove, algunos en indiferenciación (27.3%) y en desarrollo (27.3%), cuando la temperatura del agua registró 24°C.

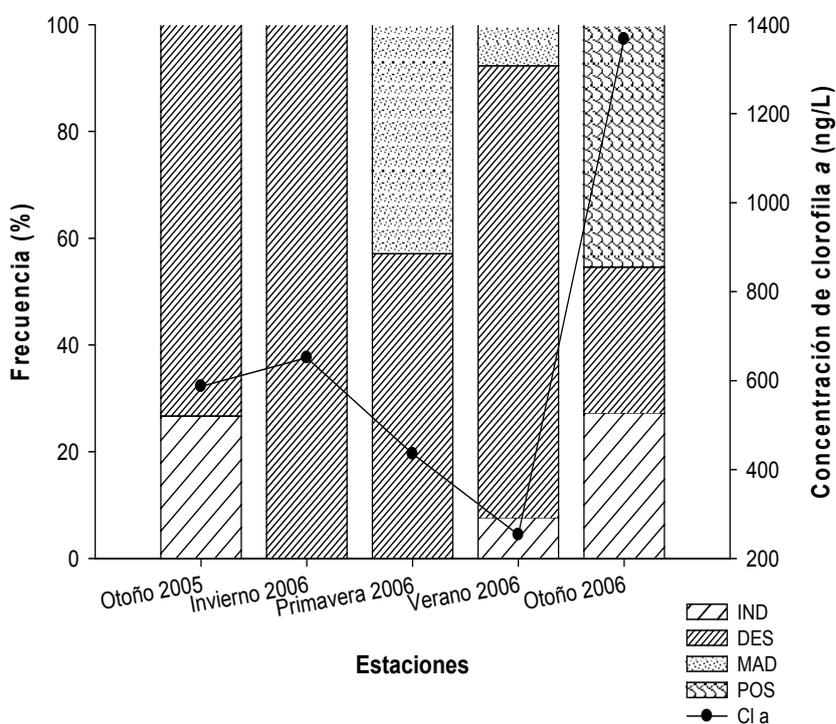
Es importante señalar que en ninguno de los meses muestreados se encontraron individuos en desove (Fig. 10).



**Figura 10.** Ciclo reproductivo de la madreperla *P. mazatlanica* durante el periodo 2005-2006 y su relación con la temperatura del agua. IND = indiferenciado; DES = desarrollo; MAD = madurez; POS = postdesove.

En la figura 11 se presenta el ciclo reproductivo de *P. mazatlanica* y su relación con la concentración de clorofila *a*. Se puede observar que durante los niveles mínimos y máximos de este pigmento fotosintético, los organismos se encontraban, en mayor porcentaje, en los estadios de desarrollo y postdesove,

respectivamente. Se puede observar las variaciones en el porcentaje de individuos en fase de desarrollo de la gónada a medida que variaron las concentraciones de clorofila *a*, las cuales durante otoño de 2005 e invierno de 2006 presentaron un incremento importante, acompañado de un sendo incremento de individuos en fase de desarrollo de la gónada. Resalta el hecho de que durante invierno de 2006, cuando el 100% de los individuos estaban en desarrollo, la concentración de clorofila *a* no fue muy alta (651.44 ng/L), mientras que en otoño de 2006, cuando la concentración de dicho pigmento fue la más elevada de todo el periodo de estudio (1367.48 ng/L), sólo un pequeño porcentaje (27.3%) de los individuos se encontraban en fase de desarrollo gonadal (Fig. 11).



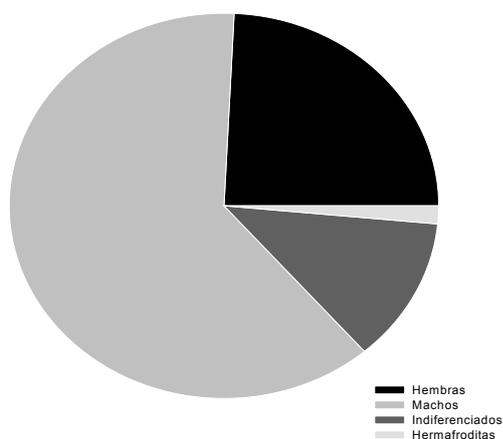
**Figura 11.** Ciclo reproductivo de la madreperla *P. mazatlanica* durante el periodo 2005-2006 y su relación con la concentración de clorofila *a*. IND = indiferenciado; DES = desarrollo; MAD = madurez; POS = postdesove.

Como parte de los análisis cualitativos, cabe mencionar que en el muestreo correspondiente a otoño 2006 no se encontraron hembras, por lo que en los indicadores de gónada femenina así como para observar la dinámica de lípidos y carbohidratos entre esta y demás tejidos especializados sólo se consideraron las primeras cuatro estaciones (otoño 2005, invierno, primavera y verano de 2006).

#### 7.4. Análisis cuantitativo.

##### 7.4.1. Proporción sexual.

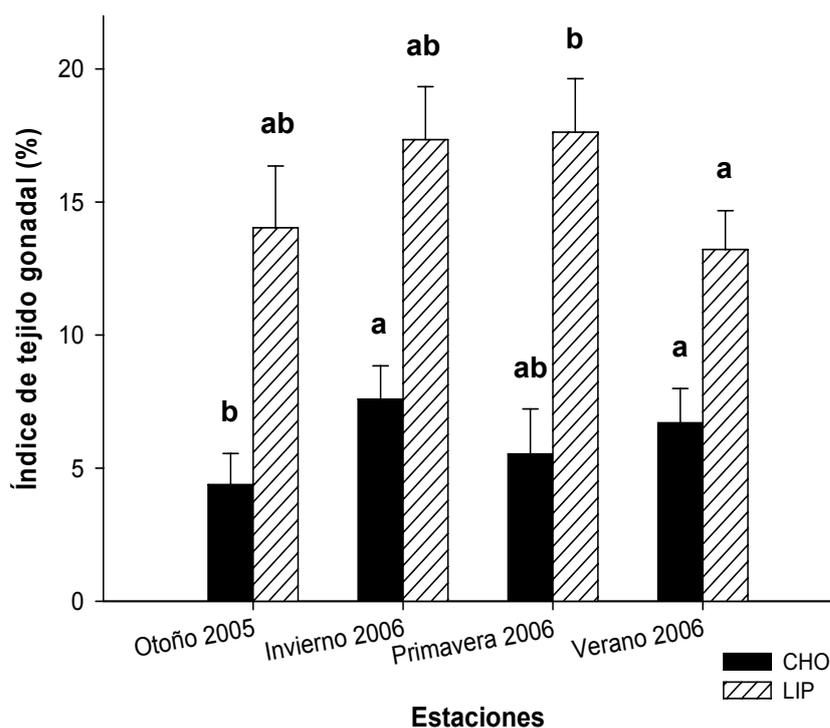
El análisis histológico mostró una mayor frecuencia de machos (62.1%) que de hembras (24.2%), obteniéndose una proporción de sexos igual a 0.4 hembras por cada macho (0.4:1). Asimismo, se encontró un porcentaje importante de individuos en etapa de indiferenciación sexual (12.1%), así como un individuo (1.5%) en proceso de cambio de sexo de macho a hembra (hermafrodita protándrico) (Fig. 12).



**Figura 12.** Proporción de sexos de *P. mazatlanica* durante el ciclo reproductivo 2005-2006.

### 7.4.2. Gónada femenina.

En hembras, el índice de tejido gonadal (ITG) mostró que a lo largo del periodo de estudio fueron mayores los valores de los análisis para lípidos que los de carbohidratos (Figura 13). En los análisis para lípidos, el valor máximo de ITG correspondió a la primavera del 2006; mientras que en los análisis para carbohidratos el valor máximo se registró en invierno del mismo año (Tabla III, Anexo F). Se encontraron diferencias significativas en los valores del ITG con respecto al tiempo ( $F = 5.05$ ;  $p < 0.05$  para carbohidratos y  $F = 5.26$ ;  $p < 0.05$  para lípidos).

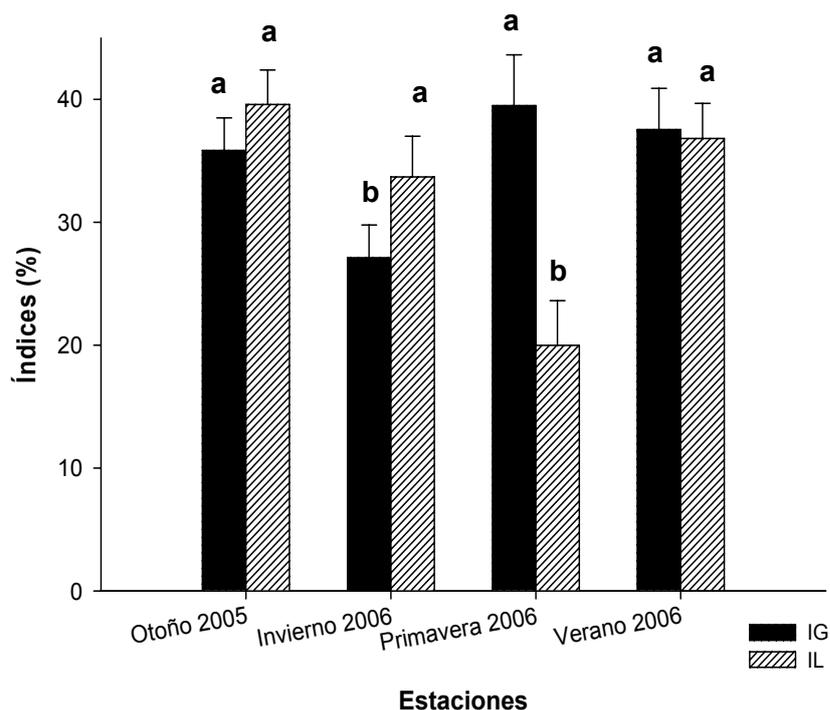


**Figura 13.** Variaciones estacionales en el índice de tejido gonadal de hembras de *P. mazatlanica* durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

Las variaciones estacionales en los atributos de gotas glucídicas y lipídicas (área, diámetro medio y perímetro de cobertura) en los ovocitos, se presentan en la tabla III (Anexo F). Los valores máximos en la cobertura de carbohidratos en los ovocitos se presentaron durante invierno y verano 2006; mientras que los valores máximos de cobertura de lípidos se observaron durante verano 2006.

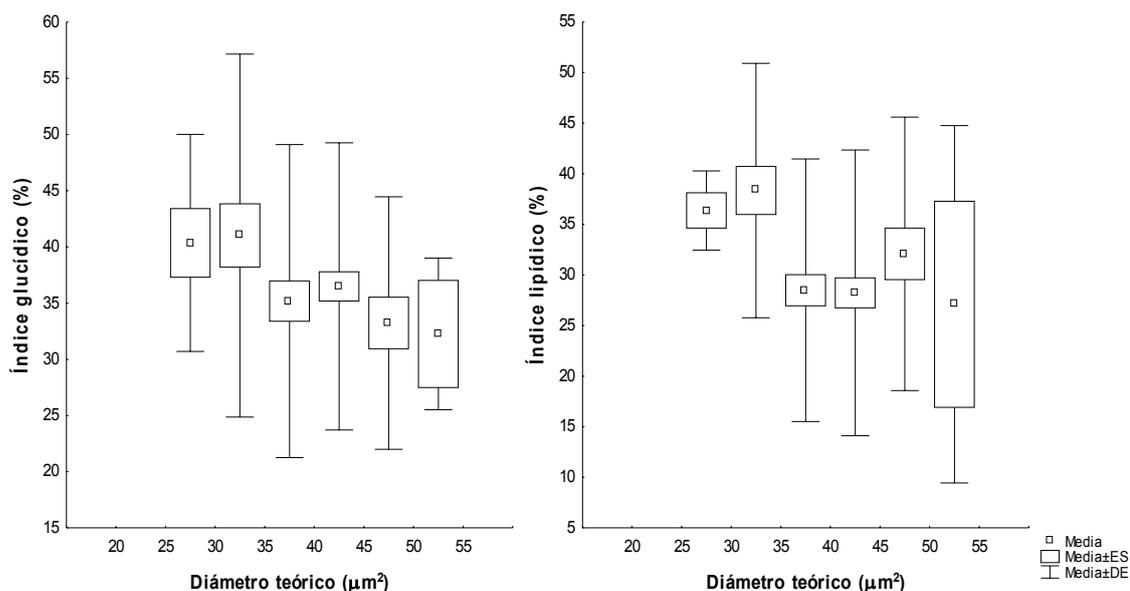
Las correlaciones realizadas entre el diámetro teórico de los ovocitos y los atributos de gotas glucídicas fueron significativas respecto al área de cobertura ( $r = 0.77$ ,  $p < 0.05$ ) y perímetro de cobertura ( $r = 0.42$ ,  $p < 0.05$ ); pero no así respecto al diámetro medio de cobertura ( $r = 0.03$ ,  $p > 0.05$ ). En el caso de las gotas lipídicas, dichas correlaciones fueron significativas para todos los atributos ( $r = 0.32$ ,  $p < 0.05$  para área de cobertura;  $r = 0.33$ ,  $p < 0.05$  para diámetro de cobertura;  $r = 0.25$ ,  $p < 0.05$  para perímetro de cobertura).

En la tabla III (Anexo F) se presentan las variaciones estacionales en los indicadores cuantitativos de la gónada femenina. El nivel máximo en el índice glucídico se observó durante primavera de 2006, mientras que los niveles mínimos se presentaron durante otoño de 2005. En el caso del índice lipídico, los niveles máximos y mínimos se observaron durante otoño de 2005 y primavera de 2006, respectivamente (Fig. 14). En ambos análisis se encontraron diferencias significativas a lo largo del tiempo ( $F = 70.7$ ;  $p < 0.05$  para carbohidratos y  $F = 46.6$ ;  $p < 0.05$  para lípidos).



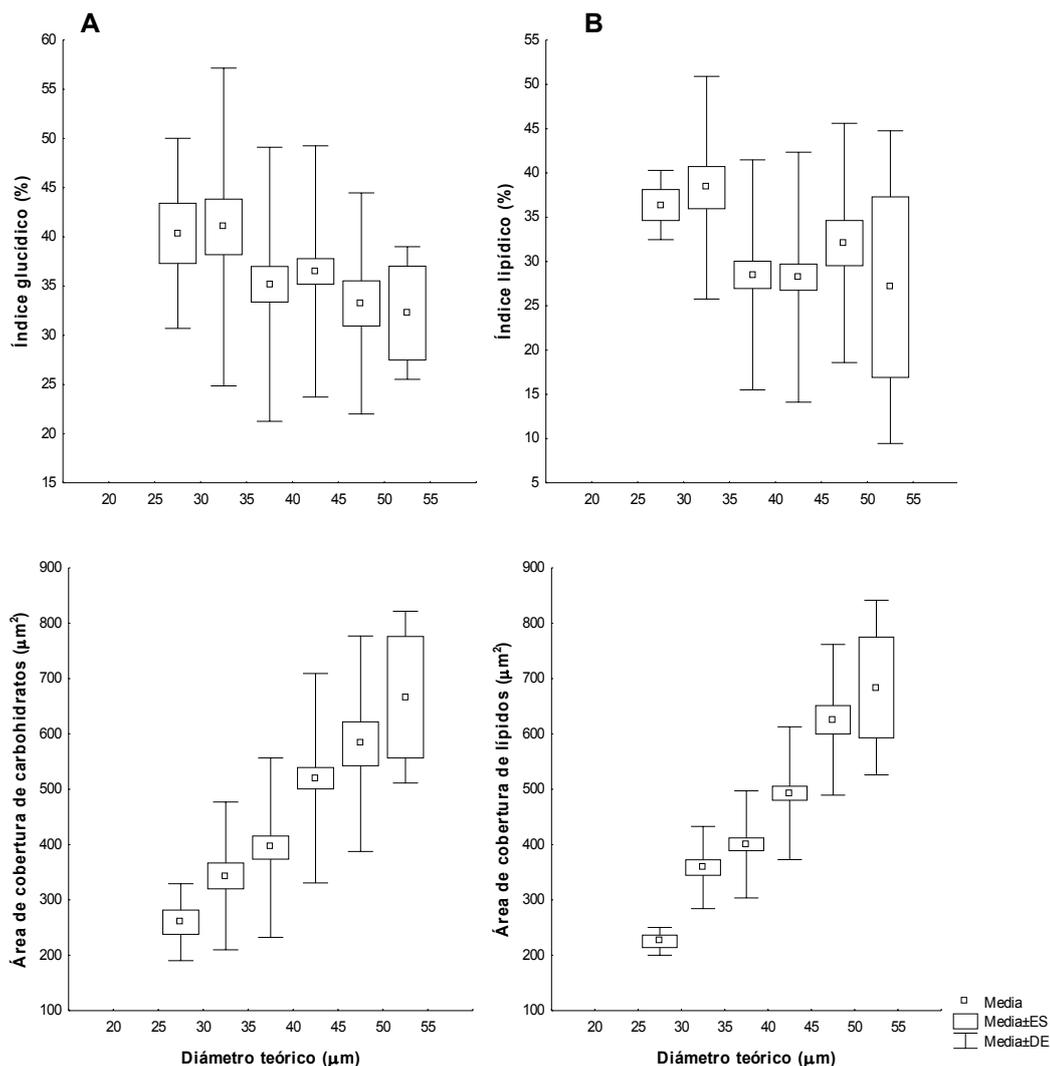
**Figura 14.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en los ovocitos de *P. mazatlanica* durante un ciclo anual 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

En la figura 15 se presenta la relación que guardó el contenido de carbohidratos y lípidos con el diámetro teórico de los ovocitos de *P. mazatlanica*. Se puede observar que a menor diámetro teórico, mayor es el contenido de carbohidratos y lípidos en los ovocitos. Las correlaciones entre el diámetro teórico de los ovocitos y su contenido celular fueron no significativas para el análisis de carbohidratos ( $r = 0.11$ ,  $p > 0.05$ ), pero si fueron significativas para el correspondiente a lípidos ( $r = 0.14$ ,  $p < 0.05$ ).



**Figura 15.** Relación entre los índices glucídico y lipídico y el diámetro teórico de los ovocitos de *Pinctada mazatlanica*.

Se realizaron correlaciones entre la talla de ovocitos y los índices glucídico y lipídico, así como entre el área de cobertura de gotas glucídicas y lipídicas. En los análisis para carbohidratos, las correlaciones fueron significativas entre la talla de los ovocitos y el área de cobertura ( $r = 0.50$ ,  $p < 0.05$ ), así como entre el área de cobertura y el índice glucídico ( $r = 0.77$ ,  $p < 0.05$ ). Caso contrario ocurrió en las correlaciones entre la talla de los ovocitos y el índice glucídico, la cual no fue significativa ( $r = 0.11$ ,  $p > 0.05$ ) (Fig. 16). En los análisis para lípidos, también se encontraron correlaciones significativas entre la talla de los ovocitos y el área de cobertura ( $r = 0.62$ ,  $p < 0.05$ ), entre el área de cobertura y el índice lipídico ( $r = 0.32$ ,  $p < 0.05$ ), así como entre la talla de ovocitos y el índice lipídico ( $r = 0.14$ ,  $p < 0.05$ ).



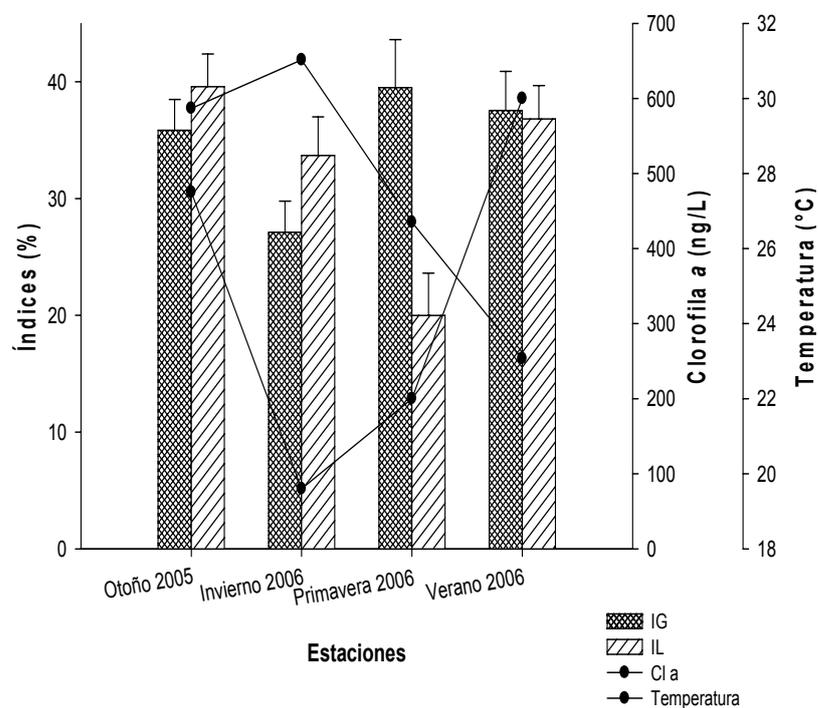
**Figura 16.** Relación entre el diámetro teórico de los ovocitos de *P. mazatlanica* y el índice glucídico (A), índice lipídico (B) y áreas de cobertura de ambos componentes.

Esta situación resulta interesante, puesto que tanto el índice glucídico como el índice lipídico se calcularon a partir de la sumatoria del área de cobertura de las gotas glucídicas y lipídicas en el ovoplasma de los ovocitos. Gráficamente, se observa una relación inversamente proporcional en la que a mayor área de cobertura de gotas glucídicas y lipídicas mayor es la talla de ovocitos y viceversa. Por el contrario, en los índices glucídico y lipídico el

comportamiento es contrario, es decir, a menor talla de ovocitos mayor el valor de los índices (Fig. 16).

En la figura 17 se presentan las variaciones en el índice glucídico e índice lipídico de los ovocitos y su relación con respecto a los parámetros ambientales. Se puede observar que durante primavera (22 °C, 435.16 ng/L) y verano de 2006 (30 °C, 253.25 ng/L), los niveles del índice glucídico fueron mayores que el resto de los muestreos, en donde el índice lipídico fue mayor.

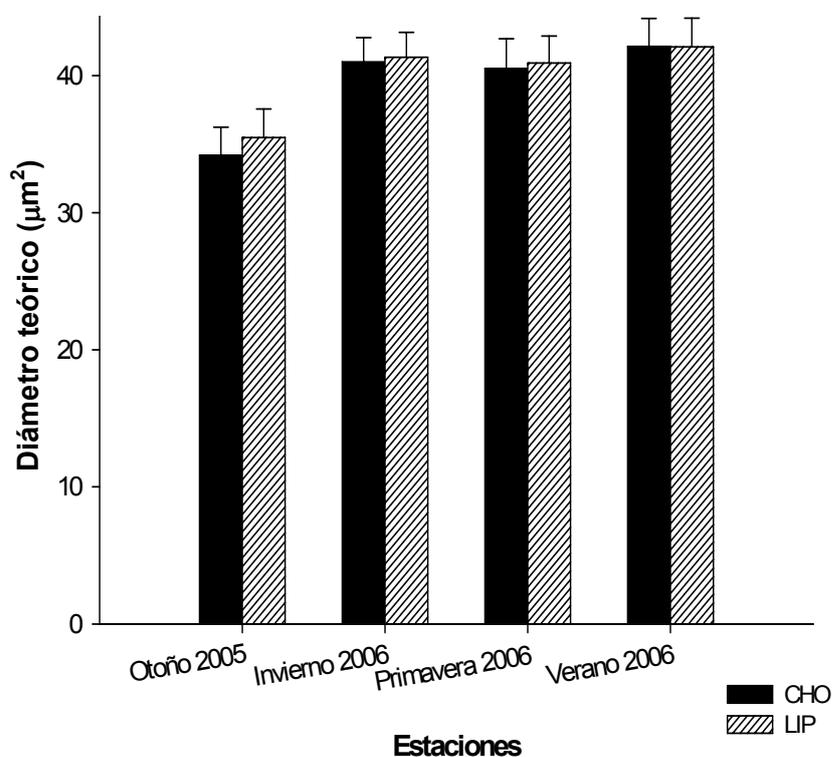
También se puede apreciar que tanto la temperatura mínima (19.6 °C), como la concentración de clorofila *a* más elevada (651.44 ng/L), coincidieron con la concentración mínima del índice glucídico durante invierno de 2006 (Fig. 17).



**Figura 17.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en los ovocitos de *P. mazatlanica* y su comportamiento con clorofila *a* y temperatura.

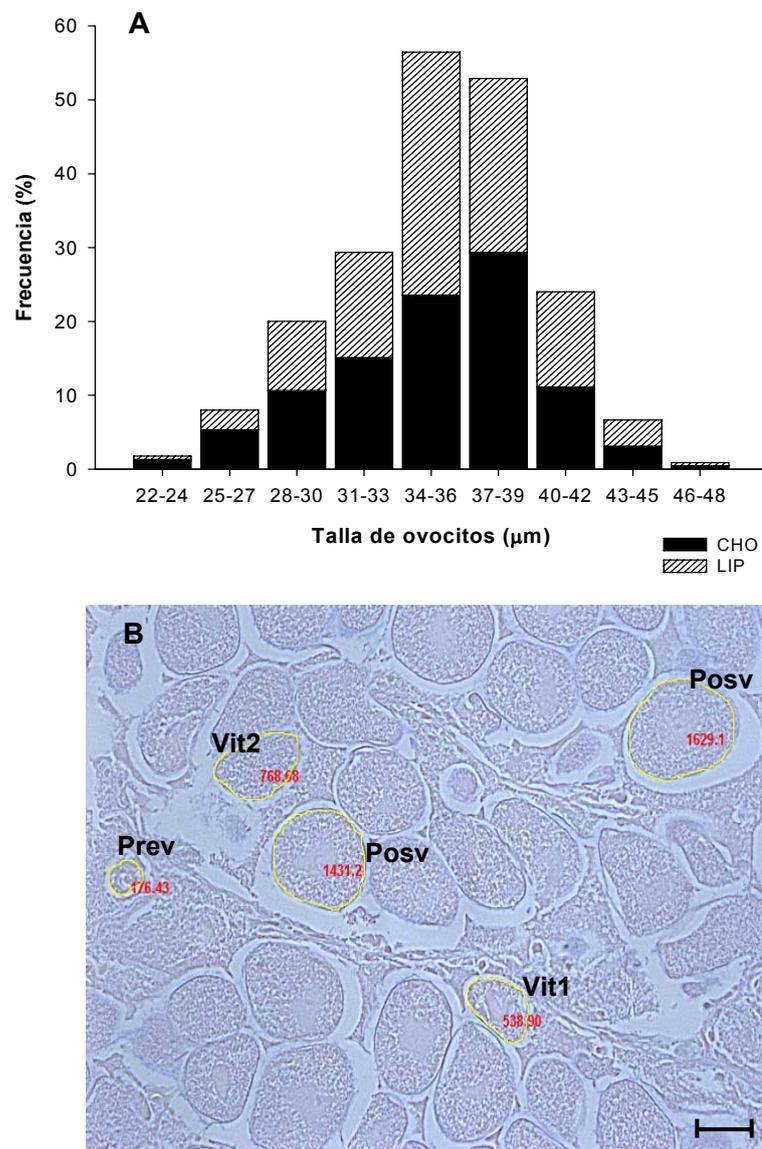
#### 7.4.4.2. Análisis de ovocitos.

Las variaciones estacionales en el diámetro teórico (DT en  $\mu\text{m}$ ) de los ovocitos de *P. mazatlanica*, se presentan en la tabla III (Anexo F) y figura 18. Los ovocitos de menor talla se observaron en otoño 2005, mientras que los de mayor talla en verano 2006, tanto para los análisis de carbohidratos, como para lípidos (Fig. 18). En el diámetro teórico de los ovocitos, para ambos análisis, se encontraron diferencias significativas a lo largo del tiempo ( $F = 33.09$ ;  $p < 0.05$ , carbohidratos;  $F = 26.82$ ;  $p < 0.05$ , lípidos).



**Figura 18.** Variaciones estacionales del diámetro teórico de ovocitos de *P. mazatlanica* durante 2005-2006.

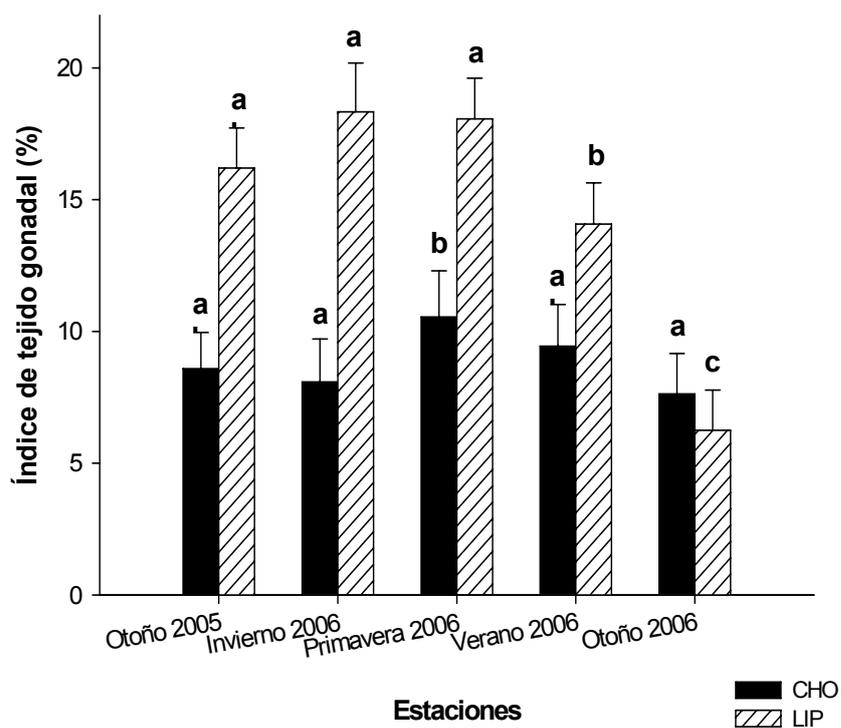
Las tallas promedio de los ovocitos, para ambos análisis (lípidos y carbohidratos), oscilaron entre las 34 y 36  $\mu\text{m}$  (Fig. 19). Asimismo, las correlaciones entre el área del ovocito y el diámetro teórico fueron significativas ( $r = 0.99$ ,  $p < 0.05$ , para análisis de carbohidratos y lípidos ( $r = 0.98$ ,  $p < 0.05$ ), debido a que el diámetro teórico se obtuvo a partir de la talla de los ovocitos.



**Figura 19.** Histograma de tallas de ovocitos de *P. mazatlanica* durante un ciclo anual (A); Microfotografía mostrando la talla de ovocitos previtelogénicos (Prev), vitelogénicos 1 y 2 (Vit1y Vit2) y postvitelogénicos (Post) (B). Escala = 50  $\mu\text{m}$ .

### 7.4.3. Gónada masculina.

En machos, el índice tejido gonadal (ITG) mostró que a lo largo del periodo de estudio los valores de los análisis para lípidos también fueron mayores que los de carbohidratos. En los análisis para lípidos, el valor máximo observado para el ITG fue durante invierno del 2006; mientras que en los análisis para carbohidratos el valor máximo se registró en primavera del mismo año (Fig. 20). En ambos análisis, se encontraron diferencias significativas respecto al tiempo ( $F = 6.47$ ;  $p < 0.05$  para carbohidratos y  $F = 10.0$ ;  $p < 0.05$  para lípidos).

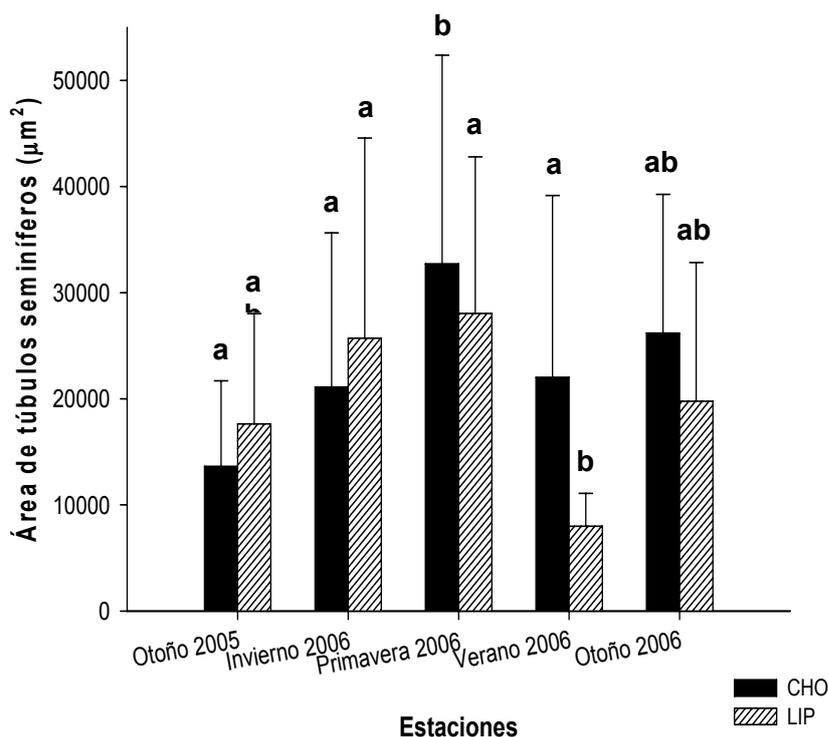


**Figura 20.** Variaciones estacionales en el índice de tejido gonadal de machos de *P. mazatlanica* durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

En la tabla IV (Anexo G) se presentan los indicadores cuantitativos de la gónada masculina. En lo que respecta al área de los túbulos seminíferos, los de mayor tamaño se encontraron en primavera 2006, tanto en el caso de carbohidratos como en el de lípidos (Fig. 21). Se encontraron diferencias significativas en el tiempo par ambos análisis ( $F = 11.05$ ;  $p < 0.05$  para carbohidratos y  $F = 6.47$ ;  $p < 0.05$  para lípidos). En cuanto a las correlaciones, tanto en los análisis de carbohidratos como de lípidos no se encontraron ajustes significativos entre el área de los túbulos seminíferos y el contenido de estos componentes ( $r = 0.07$ ,  $p > 0.05$ , en ambos casos).

Las variaciones estacionales en los atributos de gotas glucídicas y lipídicas (área, diámetro medio y perímetro de cobertura) en los túbulos seminíferos, se presentan en la tabla IV (Anexo G). Los valores máximos en los atributos de cobertura, tanto de carbohidratos como de lípidos se presentaron durante otoño 2006 y primavera 2006, respectivamente.

En los atributos de gotas glucídicas, sí se encontraron correlaciones significativas entre el área de los túbulos seminíferos y el área de cobertura ( $r = 0.90$ ,  $p < 0.05$ ), diámetro medio de cobertura ( $r = 0.96$ ,  $p < 0.05$ ) y perímetro de cobertura ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.05$ ). En lo que respecta a los ajustes entre los atributos de gotas lipídicas y el área de túbulos seminíferos también fueron significativos para todos los atributos de cobertura ( $r = 0.90$  para área de cobertura;  $r = 0.83$  para diámetro medio de cobertura y  $r = 0.87$ , para perímetro de cobertura;  $p < 0.05$ ).

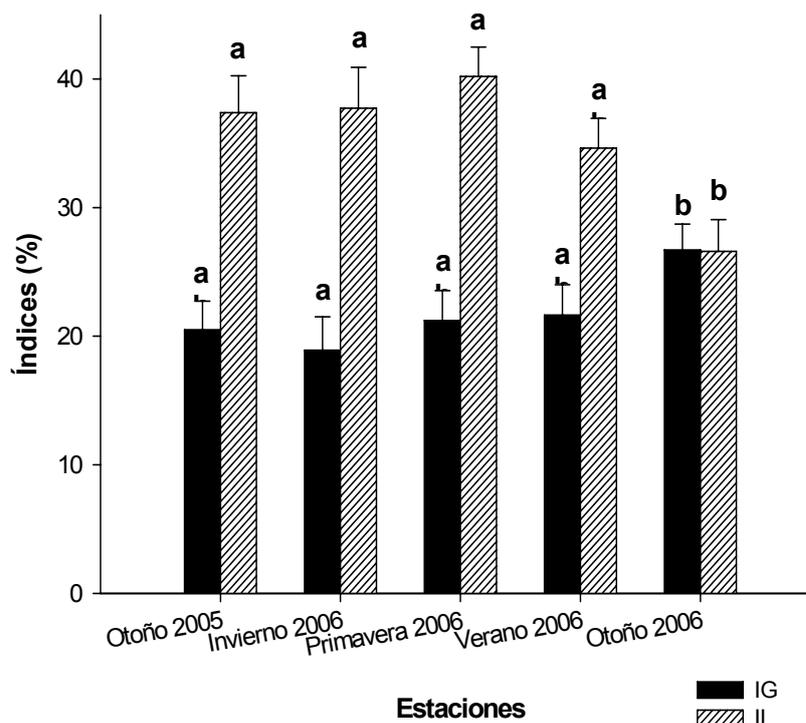


**Figura 21.** Variaciones estacionales en la talla de túbulos seminíferos de *P. mazatlanica* durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

En cuanto a los índices glucídico y lipídico en gónada masculina, los niveles más altos de carbohidratos se registraron durante otoño de 2006, mientras que los de lípidos se observaron durante primavera del mismo año (Fig. 22). Las diferencias respecto al tiempo fueron significativas para los análisis para el índice glucídico ( $F = 14.27$ ,  $p < 0.05$ ) y para el índice lipídico ( $F = 11.53$ ,  $p < 0.05$ ).

Las correlaciones realizadas entre el índice glucídico y los atributos de cobertura fueron significativos en todos los casos ( $r = 0.41$  para área de cobertura;  $r = 0.23$  para diámetro medio de cobertura y  $r = 0.32$ , para perímetro

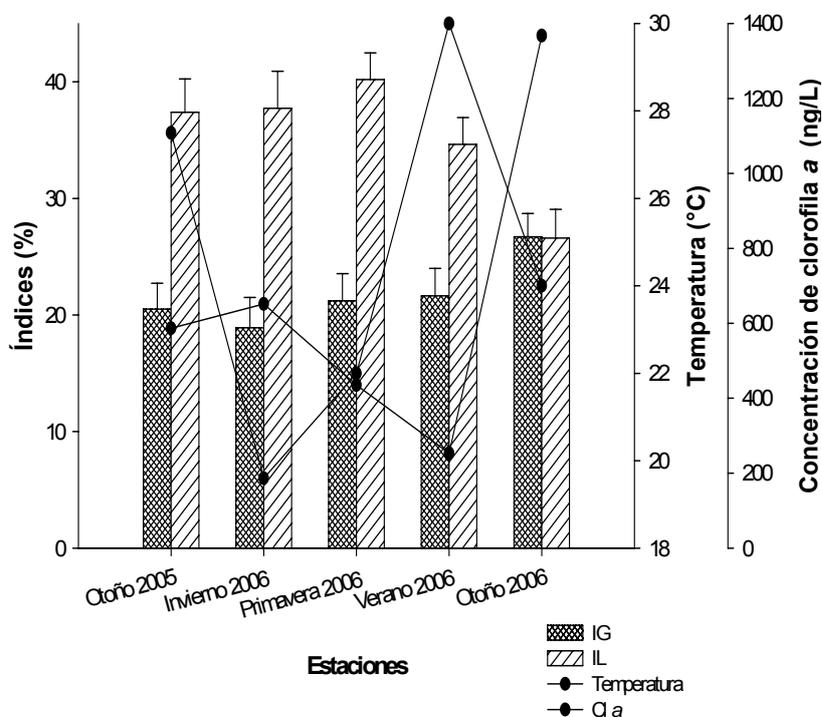
de cobertura;  $p < 0.05$ ). Por su parte, entre el índice lipídico y los atributos de cobertura solo se encontró un ajuste significativo en el área de cobertura ( $r = 0.27$ ,  $p < 0.05$ ), y ajustes no significativos para diámetro medio de cobertura ( $r = 0.15$ ,  $p > 0.05$ ) y perímetro de cobertura ( $r = 0.06$ ,  $p > 0.05$ ).



**Figura 22.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en la gónada masculina de *P. mazatlanica* durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

En la figura 23 se presenta el comportamiento de los índices glucídico y lipídico con los parámetros ambientales. Se puede observar que durante invierno de 2006, los niveles mínimos del índice glucídico coincidieron con la temperatura más baja del período de estudio (19.6 °C); mientras que los

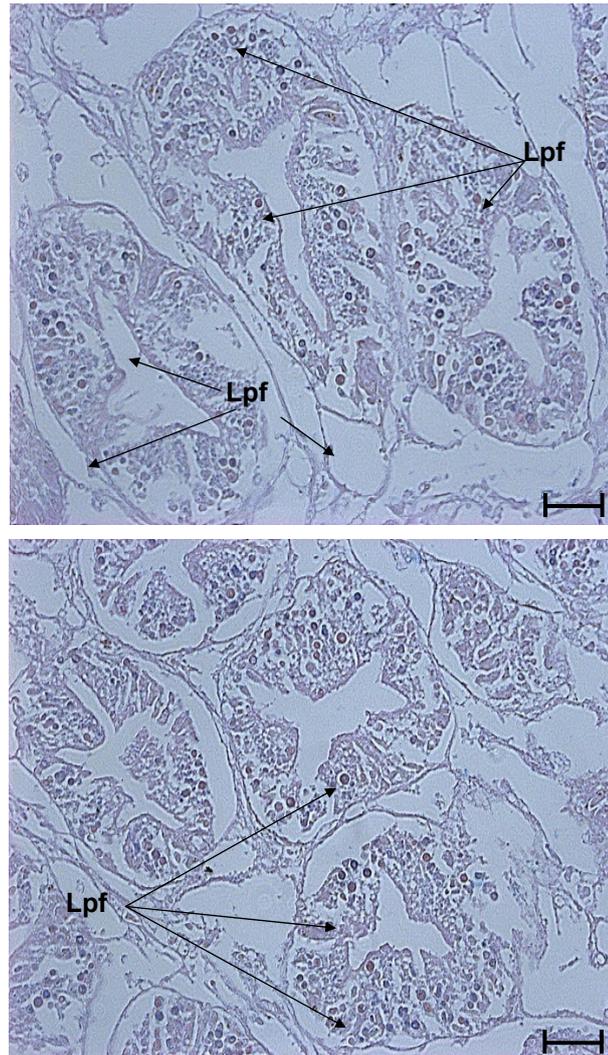
niveles más elevados coincidieron con la mayor concentración de clorofila *a* durante otoño de 2006.



**Figura 23.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en la gónada masculina de *P. mazatlanica* y su comportamiento con temperatura y clorofila *a*.

#### 7.4.4. Glándula digestiva.

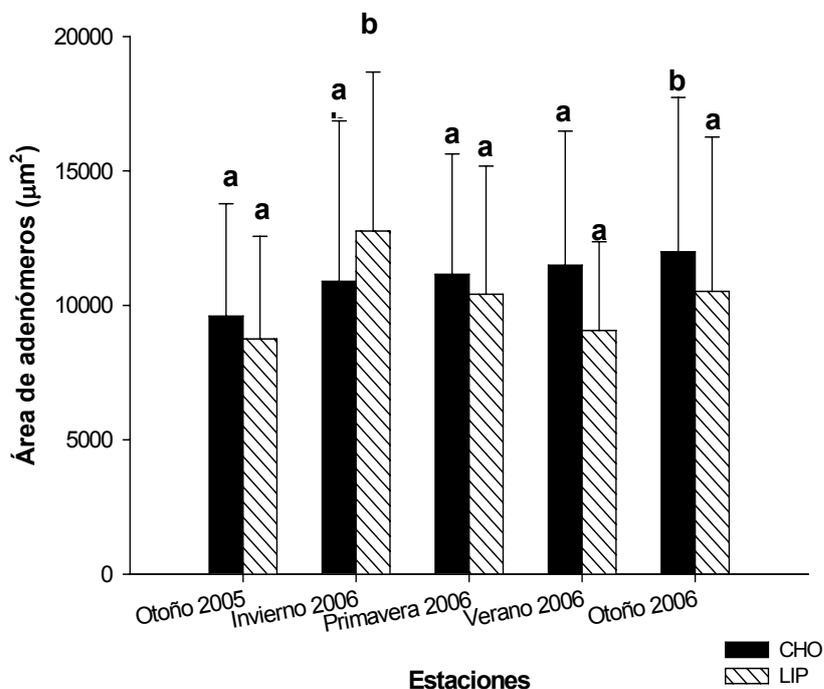
El análisis histológico de la glándula digestiva reveló la presencia de ciertas estructuras de forma circular y de color marrón dentro de los adenómeros (Fig. 24). Dichas estructuras se denominan lipofuscinas y su ocurrencia dentro de los adenómeros fue constante, encontrándose siempre en un número mayor a 5 estructuras por adenómero. El papel de estas estructuras se abordará a detalle en la sección de discusión.



**Figura 24.** Microfotografía de la glándula digestiva de *P. mazatlanica* mostrando lipofuscinas (Lpf) dentro de los adenómeros. Escala = 100  $\mu$ m.

La tabla V (Anexo H) muestra un resumen de los datos referentes a todos los indicadores cuantitativos calculados de glándula digestiva a lo largo del periodo de estudio. En lo que respecta al área de los adenómeros, los mayores valores se encontraron en otoño 2006 para los análisis de carbohidratos; mientras que en los análisis de lípidos, los adenómeros de mayor talla se encontraron en invierno del mismo año (Fig. 25). En los análisis para

carbohidratos, las diferencias en la talla de adenómeros no fueron significativas respecto al tiempo ( $F = 2.25$ ;  $p > 0.05$ ), caso contrario en los análisis para lípidos ( $F = 6.75$ ;  $p < 0.05$ ).



**Figura 25.** Variaciones estacionales en el área de los adenómeros de la glándula digestiva de *P. mazatlanica* durante el periodo 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

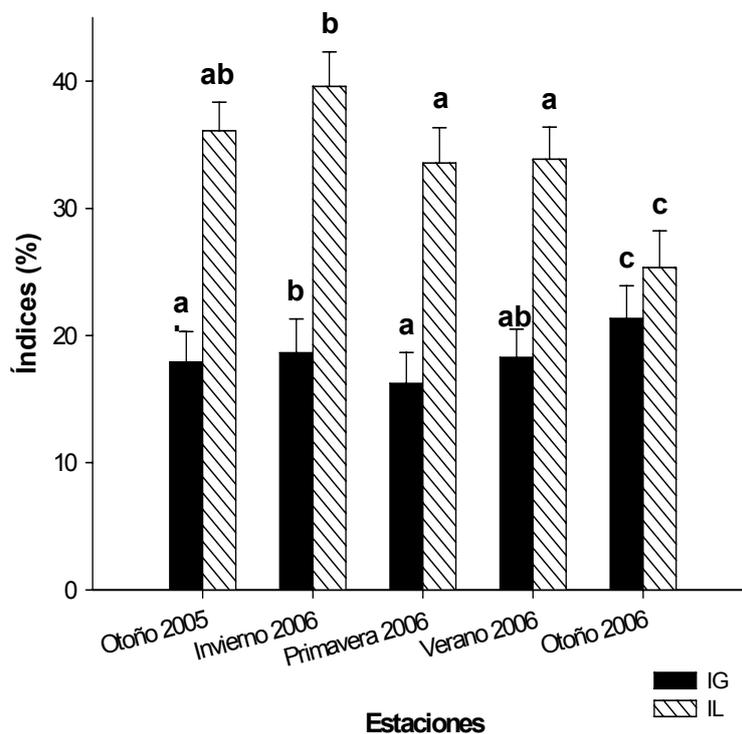
En cuanto a los atributos de gotas glucídicas y lipídicas, los valores máximos se presentaron durante otoño 2006 para los análisis de carbohidratos. Por su parte, en los análisis para lípidos, los valores máximos se presentaron durante invierno 2006 y primavera 2006 (Tabla V, Anexo G).

En los análisis de carbohidratos, las correlaciones entre los diferentes atributos de la glándula digestiva y el área de los adenómeros mostraron

ajustes significativos con respecto al área de cobertura ( $r = 0.70$ ,  $p < 0.05$ ), diámetro medio de cobertura ( $r = 0.84$ ,  $p < 0.05$ ) y perímetro de cobertura ( $r = 0.79$ ,  $p < 0.05$ ). En los análisis de lípidos, las correlaciones también fueron significativas para área, diámetro medio y perímetro de cobertura ( $r = 0.66$ ,  $r = 0.69$ , y  $r = 0.65$ ,  $p < 0.05$ , respectivamente).

Los niveles máximos en el índice lipídico e índice glucídico se observaron durante invierno y otoño de 2006, respectivamente (Fig. 26). Tanto en el índice glucídico como en el índice lipídico, se encontraron diferencias significativas respecto al tiempo ( $F = 9.11$  y  $F = 39.32$ , respectivamente;  $p < 0.05$ ) (Tabla V, Anexo G).

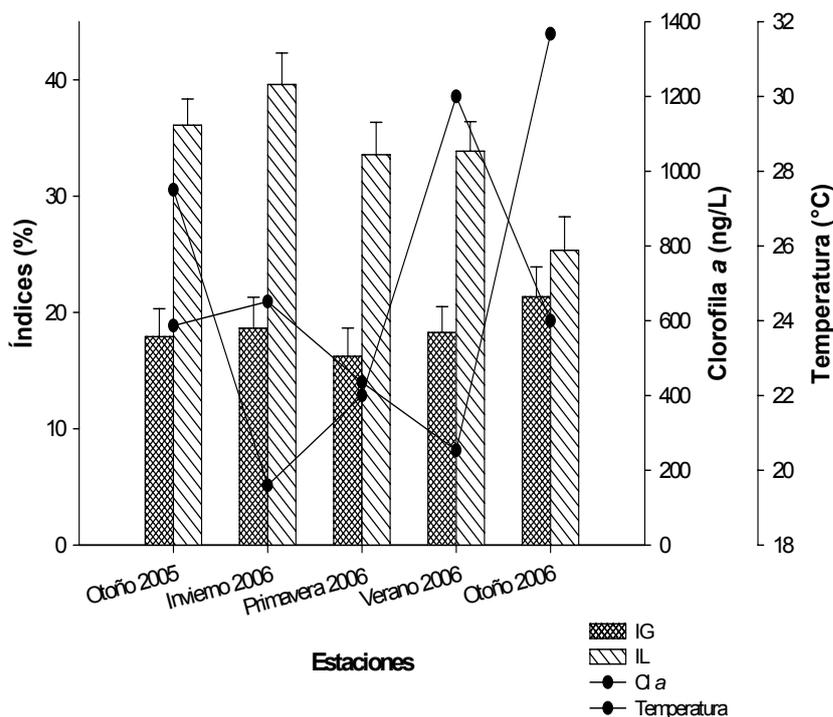
Las correlaciones realizadas entre el área de los adenómeros y los índices de calidad fueron significativas para el caso del análisis de carbohidratos ( $r = 0.19$ ,  $p < 0.05$ ), más no lo fueron con relación al análisis de lípidos ( $r = 0.08$ ,  $p > 0.05$ ). En cuanto a los atributos de cobertura y el índice glucídico, las correlaciones fueron significativas para el área de cobertura ( $r = 0.49$ ,  $p < 0.05$ ), diámetro medio de cobertura ( $r = 0.11$ ,  $p < 0.05$ ) y perímetro de cobertura ( $r = 0.31$ ,  $p < 0.05$ ). Respecto al índice lipídico y los atributos de gotas lipídicas los ajustes fueron significativos para área y perímetro de cobertura ( $r = 0.43$ ;  $r = 0.13$ ,  $p < 0.05$ , respectivamente); no así para el diámetro medio de cobertura ( $r = 0.06$ ,  $p > 0.05$ ).



**Figura 26.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en la glándula digestiva de *P. mazatlanica*. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

En la figura 27 se observa el comportamiento del índice glucídico e índice lipídico con respecto a las variaciones en la temperatura del agua y concentración de clorofila *a*. Durante invierno de 2006, los niveles máximos del ILGD coincidieron con la temperatura más baja del período de estudio (19.6 °C).

Por su parte, en lo que respecta a la clorofila *a*, el nivel mínimo del índice lipídico y la concentración máxima de este pigmento coincidió en otoño de 2006 (Fig. 27).



**Figura 27.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en la glándula digestiva de *P. mazatlanica* y su comportamiento con clorofila *a* y temperatura.

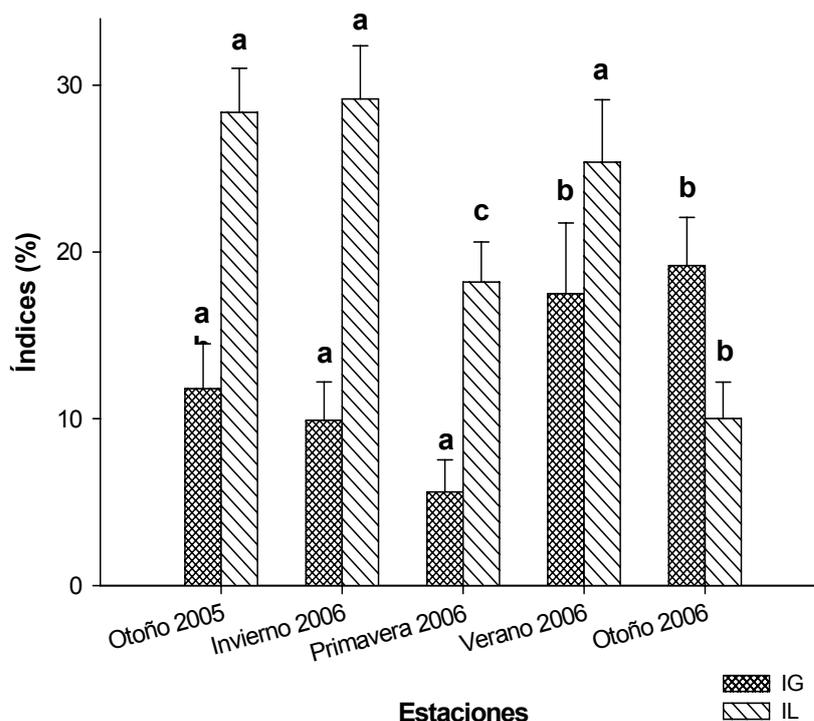
#### 7.4.5. Músculo aductor.

En la tabla VI (Anexo I) se presentan los indicadores cuantitativos del músculo aductor. Los valores máximos en los atributos de cobertura se presentaron durante otoño 2006, para los análisis de carbohidratos. En los análisis para lípidos, los valores máximos se presentaron durante invierno y verano 2006 y otoño 2005.

Los niveles máximos en el índice glucídico e índice lipídico se observaron durante otoño de 2006 e invierno de 2006, respectivamente (Fig. 28); mientras que los niveles mínimos se presentaron en primavera de 2006 para el índice glucídico y en otoño de 2006 para el índice lipídico (Tabla VI, Anexo I). Se

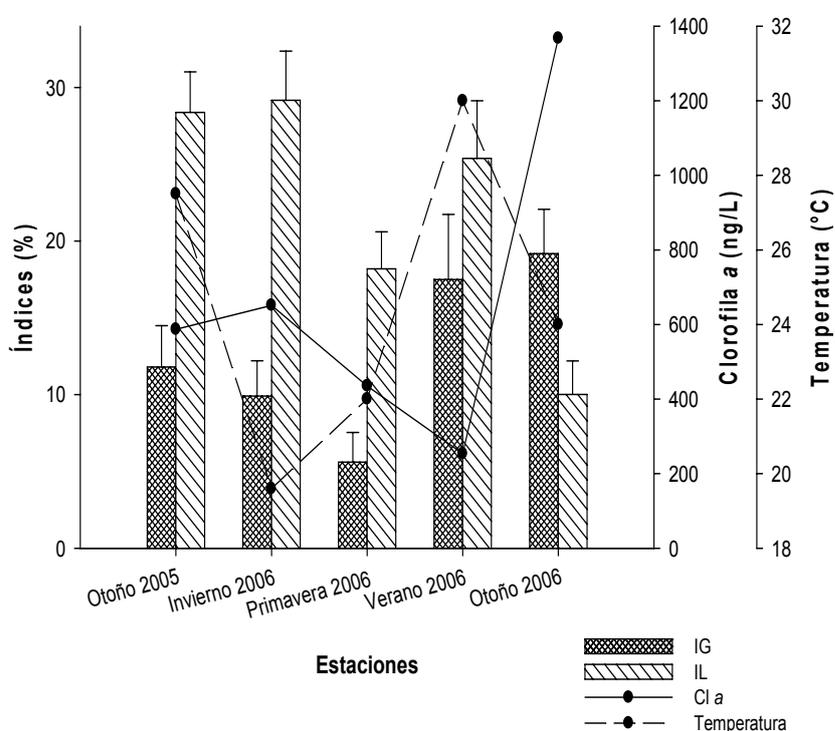
encontraron diferencias significativas en ambos índices respecto al tiempo ( $F = 10.60$ ;  $p < 0.05$  para carbohidratos y  $F = 21.14$ ;  $p < 0.05$  para lípidos).

Las correlaciones entre el índice glucídico y los atributos de cobertura ajustaron significativamente en todos los casos ( $r = 0.59$ ,  $p < 0.05$  para área, diámetro medio y perímetro de cobertura). En el caso del índice lipídico, las correlaciones fueron significativas para el área y perímetro de cobertura ( $r = 0.60$  y  $r = 0.21$ ,  $p < 0.05$ , respectivamente) y no significativas para el diámetro medio de cobertura ( $r = 0.01$ ,  $p > 0.05$ ).



**Figura 28.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en el músculo aductor de *P. mazatlanica* durante 2005-2006. Las letras iguales en cada análisis indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) después de la aplicación de la prueba de Tukey.

Respecto a los índices calculados y su comportamiento con los parámetros ambientales, se puede observar que durante invierno de 2006, los niveles máximos del índice lipídico coincidieron con la temperatura más baja del período de estudio (19.6 °C). Mientras que los niveles más bajos coincidieron con la mayor concentración de clorofila *a* durante otoño de 2006 (Fig. 29).



**Figura 29.** Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos y lípidos en el músculo aductor de *P. mazatlanica* y su comportamiento con clorofila *a* y temperatura.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. Efecto de los parámetros ambientales sobre la biología reproductiva de la especie.

En el presente estudio con *P. mazatlanica*, la evidencia histológica señala que durante el ciclo 2005-2006 predominó el estadio de desarrollo gonadal, incluso durante la estación de invierno cuando la temperatura fue la más fría de todo el periodo de estudio (19.6 °C). Los estadios de madurez se observaron en primavera (22 °C) y verano (30 °C) de 2006; no se encontró evidencia de organismos en desove, pero se cree que pudieron haberse presentado de manera parcial en septiembre–octubre (otoño) de 2006, cuando la temperatura seguía siendo alta (28-29 °C). Al respecto, Vite-García (2005) menciona que en el Golfo de California, *P. mazatlanica* se encuentra en etapas de desarrollo o madurez cuando la temperatura del agua oscila entre los 23 °C y 28 °C (primavera-verano), mientras que a medida que ésta va disminuyendo, los organismos entran en reposo en la actividad reproductora y predominan los estadios de postdesove e indiferenciación. Esto último se observó durante el presente estudio, ya que en otoño de 2006, cuando el agua se encontraba a unos 24 °C, se incrementó el porcentaje de individuos en etapa de indiferenciación sexual y postdesove.

La mayoría de estudios previos sobre la biología reproductiva de *P. mazatlanica* han identificado el principal pico reproductivo en verano, cuando la temperatura de agua alcanza sus valores máximos entre los 29 °C y 30 °C (Sevilla, 1969; Arizmendi-Castillo, 1996; García-Domínguez *et al.*, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997; Saucedo *et al.*, 2002b; Vite-García, 2005; Gómez-

Robles *et al.*, 2005). Dicho pico reproductivo se caracteriza por una alta incidencia de organismos maduros, una alta frecuencia de ovocitos postvitelogénicos, un aumento en el contenido de lípidos y proteínas en gónada y un bajo contenido de proteínas en el músculo aductor. Sin embargo, estudios más recientes que han empleado herramientas histológicas y bioquímicas en conjunto han permitido identificar un segundo pico reproductivo durante la primavera, que si bien no culmina con un desove poblacional masivo, sino más bien con la reabsorción de la gónada debido a las bajas temperaturas del agua (22–23 °C), es más conspicuo que el pico de verano en función de las concentraciones de proteínas y lípidos en la gónada significativamente más elevadas, así como los contenidos de carbohidratos en el músculo aductor significativamente más bajos (Saucedo *et al.*, 2002a; Gómez-Robles *et al.*, 2005; Vite-García, 2005). A diferencia del pico de verano, donde la gametogénesis se sustenta mayormente del alimento que los organismos toman del medio (y que confirma una estrategia oportunista de la especie), el pico de primavera ocurre a expensas de las reservas energéticas acumuladas en los tejidos de reserva cuando la concentración de especies fitoplanctónicas es muy abundante en invierno (apuntando ahora hacia una estrategia conservadora de la especie). Esta combinación de estrategias oportunistas vs conservadoras que *P. mazatlanica* adopta para asegurar la reproducción no es usual, pero si típica de ambientes de transición entre provincias tropicales cálidas y templadas frías, como Bahía de La Paz (Saucedo y Southgate, 2008). Otras especies de bivalvos que habitan zonas transicionales y que presentan dos periodos de madurez sustentados por las reservas almacenadas en

invierno y el alimento ingerido en verano (combinación de estrategias reproductivas) incluyen a *Pecten maximus* en las Rías de Galicia, España (Pazos *et al.*, 1997). No existe información de otras especies que utilicen este tipo de estrategias mixtas para la regulación de la reproducción.

De acuerdo al análisis histológico, se tiene evidencia suficiente para sugerir que los picos de primavera y verano 2006 se presentaron cuando la temperatura del agua era de 22–23 °C y 29–30 °C, respectivamente y se incrementaron de manera significativa los porcentajes de organismos en etapa de madurez. Los mismos datos histológicos confirman que el desove poblacional solo ocurrió durante el pico de verano, lo cual coincide con los reportes anteriores que señalan que *P. mazatlanica* limita su reproducción a los meses cálidos del año en el área de Bahía de La Paz. Sin embargo, es importante mencionar que las variaciones interanuales son responsables de cambios importantes en la temporalidad de los estadios reproductivos de la mayoría de las especies de invertebrados marinos, incluyendo los moluscos bivalvos (Giese y Pearse, 1974). Además, se debe considerar también que los eventos oceanográficos anormales, como El Niño y La Niña ocurren con cierta regularidad y ocasionan variaciones marcadas en los mecanismos de regulación de la gametogénesis. Por ejemplo, en 1995 y 2002 se presentaron eventos “El Niño”, de ahí que los estadios de desarrollo gonadal identificados por Saucedo y Monteforte (1997) y Gómez-Robles *et al.* (2005) difieran de los reportados por Vite-García (2005) y los del presente estudio, en función de las variaciones en la temperatura del agua. Con estos resultados se evidencia de manera clara que la temperatura es quizá el factor exógeno más importante

para la regulación de los principales eventos del ciclo reproductivo en invertebrados marinos (Bayne, 1976; Sastry, 1979; Giese y Pearse, 1974; Mackie, 1984; Gervis y Sims, 1992).

Por su parte, las concentraciones más elevadas de clorofila *a* se presentaron durante otoño de 2006 (1367.48 ng/L, 24 °C) y las más bajas durante verano del mismo año (253.25 ng/L, 30 °C). Estos valores de verano coinciden con los reportados por García-Cuellar *et al.* (2004), quienes estudiaron la biología reproductiva de *P. mazatlanica* en la Bahía de La Paz y encontraron una relación inversa entre la concentración de este pigmento fotosintético y la temperatura del agua (altas concentraciones de clorofila *a* en invierno y bajas concentraciones durante el verano). En relación con el avance de la gametogénesis, los mismos autores también reportaron una relación inversamente proporcional entre las concentraciones de clorofila *a* y el desarrollo de la gónada, en la cual las mayores concentraciones de este pigmento correspondían a la etapa de desarrollo en la gónada, mientras que los valores más bajos a los estadios de madurez y desove. En este estudio, se encontró una relación opuesta, ya que la concentración más elevada de dicho pigmento ocurrió cuando el estadio predominante en la gónada fue el postdesove; mientras que la mínima concentración de clorofila *a* se presentó cuando la gónada se encontraba en etapa de desarrollo. A diferencia de la temperatura del agua, este resultado sugiere que la concentración de clorofila, utilizada como indicador indirecto de productividad primaria, no juega un papel decisivo en los mecanismos de control de la reproducción de esta especie.

## 8.2. Utilidad de los indicadores de calidad de gónada y tejidos somáticos.

Los indicadores gruesos calculados para la gónada femenina (Índice de tejido gonadal) mostraron que el contenido de carbohidratos fue mayor en invierno de 2006, mientras que el de lípidos fue mayor durante primavera del mismo año. En relación con la glándula digestiva, el contenido de lípidos fue mínimo en la misma estación. Estos resultados sugieren que los lípidos del tejido gonadal femenino provinieron de la glándula digestiva y que este tejido movilizó reservas lipídicas como una estrategia para sustentar las fases más activas de desarrollo y madurez que se detectaron histológicamente durante primavera. Lo anterior coincide con lo propuesto por diversos autores respecto a que la glándula digestiva es responsable del almacenamiento y transferencia de lípidos hacia la gónada para iniciar o sustentar la gametogénesis (Gabbott, 1976; Barber y Blake, 1991; Pazos *et al.*, 1996; Racotta *et al.*, 1998; Lodeiros *et al.*, 2001; Román *et al.*, 2001; Arellano-Martínez *et al.*, 2004 entre otros). Estos resultados confirman también lo reportado por Saucedo *et al.* (2002a) y Vite-García (2005) para *P. mazatlanica*, quienes encontraron que la glándula digestiva participa en el almacenamiento y transferencia de lípidos hacia la gónada, aunque dicha participación es secundaria después del músculo aductor y únicamente por cortos periodos de 1–2 meses que coinciden con los picos de máxima actividad reproductiva durante la primavera y verano.

En cuanto al músculo aductor, se encontró que durante primavera de 2006 el contenido de carbohidratos del tejido gonadal femenino aumentó a medida que el índice glucídico del músculo aductor disminuyó en la misma estación. Con respecto al músculo aductor, se sabe que actúa como un

importante órgano de almacenamiento de energía necesaria para la gametogénesis en diversas especies de bivalvos marinos, particularmente pectínidos (Taylor y Venn, 1979; Gabbott, 1983; Barber y Blake, 1991; Epp *et al.*, 1988; Faveris y Lubet, 1991; Couturier y Newkirk, 1991 por mencionar algunos). La mayoría de estos estudios coinciden en señalar dos aspectos importantes de los mecanismos de utilización de energía: (1) que algunas especies, en función de su distribución geográfica y batimétrica, requieren movilizar reservas de proteínas del músculo aductor para regular la gametogénesis, en tanto otras utilizan los carbohidratos de este mismo órgano, y (2) que los niveles de glucógeno o proteínas del músculo mantienen siempre una relación inversamente proporcional con el ciclo de madurez gonádica de especies como *M. edulis*, *P. maximus*, *Ch. septemradiata*, *Ch. opercularis* y *A. irradians irradians*. En *P. mazatlanica*, el músculo aductor también es el sitio más importante de almacenamiento de carbohidratos y proteínas, mismos que son transferidos a la gónada diferencialmente a lo largo del año (Saucedo *et al.*, 2002a; Vite-García, 2005).

En machos, se observó una importante concentración de carbohidratos en el tejido gonadal masculino (a diferencia del tejido femenino) durante la primavera de 2006, el cual coincidió con una marcada disminución en el índice glucídico de la glándula digestiva y el músculo aductor (siendo más importante en este último tejido) durante esta misma estación. Este resultado sugiere que la producción de espermatozoides podría ocurrir parcialmente a expensas de los carbohidratos contenidos predominantemente en el músculo aductor. Si este es el caso, esto contradice lo reportado por Saucedo *et al.* (2002a),

quienes observaron que los carbohidratos de las gónadas masculina y femenina se almacenan de forma continua a pesar del avance de la gametogénesis y no tienen participación para el sustento de dicho proceso. Asimismo, estos autores sugirieron que la glándula digestiva pudiera almacenar otro tipo de nutrientes – como carbohidratos en menor grado-, para cubrir otro tipo de necesidades energéticas diferentes a la reproducción. Al respecto, se sabe que existen ciertas estructuras de los adenómeros de la glándula digestiva que permiten predecir el grado de salud y/o enfermedad del tejido, y en consecuencia, su capacidad para movilizar reservas durante la gametogénesis. Algunas de estas estructuras son las lipofuscinas, las cuales se componen de pigmentos libres de grasa que son empleados como indicadores de edad y/o enfermedad en peces (Micale y Perdichizzi, 1990; Agius y Roberts, 2003; Hur *et al.*, 2006; Bombonato *et al.*, 2007). Dada la naturaleza del presente estudio, no se pudo determinar si la presencia de lipofuscinas se debió a que los organismos se encontraban enfermos o si eran demasiado viejos. Tampoco se encontró relación alguna con el proceso reproductivo ni con el contenido de reservas del tejido. En cuanto al índice lipídico de la gónada masculina, no se encontró relación alguna con el contenido de lípidos de la glándula digestiva, excepto que sus niveles máximos se observaron en invierno de 2006, sugiriendo que los lípidos fueron tomados del alimento ingerido.

También en la gónada, el contenido de lípidos y carbohidratos fue mayor en hembras que en machos, tal como se ha reportado para varias especies de bivalvos, como *P. mazatlanica* (Saucedo *et al.*, 2002a), *P. maximus* (Pazos *et*

*al.*, 1996), *Chlamys islandica* (Brokordt y Guderley, 2004) y *Nodipecten subnodosus* (Arellano-Martínez *et al.*, 2004), entre otras. Esto tiene su lógica, ya que la acumulación de lípidos y triglicéridos durante la temporada reproductiva es energéticamente más costosa para los ovocitos que para los espermatozoides. Por su parte, en machos y organismos indiferenciados sexualmente, los niveles en dichos compuestos se mantienen bajos, tal como lo observaron previamente algunos autores (Giese, 1969; Holland, 1978; Besnard, 1991; Gallager y Mann, 1986; Gallager *et al.*, 1986; Arellano-Martínez *et al.*, 2004; Vite-García y Saucedo, 2008). Con los resultados obtenidos en este estudio se comprobó que durante la fase de indiferenciación sexual, registrada en otoño de 2005, así como en verano y otoño de 2006, los niveles de carbohidratos y lípidos fueron lo más bajos. Lo anterior contradice lo mencionado por Vite-García (2005) respecto a que durante la indiferenciación sexual ocurre una importante acumulación de reservas energéticas en los tejidos somáticos, mismas que son utilizadas para cubrir las necesidades de la gametogénesis.

Respecto al análisis de los ovocitos, se observó primeramente que el índice lipídico fue mayor en otoño de 2005, mientras que el índice glucídico fue mayor en primavera de 2006. Las correlaciones entre la talla de los ovocitos y el índice lipídico fueron significativas, no así entre la talla de los ovocitos y el índice glucídico. Esto sugiere que ambos tipos de combustibles se almacenan de forma diferencial en los gametos femeninos y tienen, por lo tanto, una importancia diferente en el proceso de formación del vitelo. De los lípidos, se debe de tomar en cuenta también que están formados por diferentes fracciones

que incluyen triglicéridos, fosfolípidos y pequeñas cadenas de esteroides (colesterol) y ácidos grasos, las cuales tienen funciones muy diferentes en la biología de los organismos y se incorporan a los gametos también de formas diferentes (Allais *et. al.*, 1964; Troy *et. al.*, 1975; Briegel, 1990; Kawooya *et al.*, 1988). En insectos, por ejemplo, Ziegler y Van Antwerpen (2006) reportaron que los lípidos son incorporados al citoplasma de los ovocitos por medio de dos mecanismos, el primero regulado por receptores de lípidos en la membrana celular y el segundo por la proteína lipasa. Los autores reportaron que durante las etapas tempranas de la vitelogénesis, la incorporación de reservas lipídicas ocurre de manera más activa y abundante que conforme se acerca el final de este evento, que es cuando la carga nutricia del huevo se ha completado. En esta etapa, lo que se incrementa es la incorporación de fosfolípidos, como una estrategia para culminar el proceso de formación de las membranas celulares que permite fortalecer a los ovocitos que serán liberados al medio a través del desove. En este estudio, dado el tipo de tinción con Sudan Negro, y en función del tipo de segmentación realizada con el analizador de imágenes, se cuantificaron exclusivamente los triglicéridos. De hecho, el programa Image Pro Plus separa automáticamente, mediante la suma de píxeles, el área ocupada por todas aquellas estructuras que están formadas por triglicéridos y se tiñen de colores oscuros (ovocitos) y deja fuera las que se tiñen de tonos claros y están constituidas por fosfolípidos (membranas).

En segundo lugar, el análisis de la talla de los ovocitos confirmó que las menores tallas (correspondientes a los ovocitos vitelogénicos) se observaron en otoño de 2005, cuando el contenido de lípidos y carbohidratos fue también

mayor. Esto se debe a que en el ovoplasma de los ovocitos vitelogénicos, la incorporación de reservas es muy activa precisamente por encontrarse en la etapa de vitelogénesis. Por su parte, en los ovocitos postvitelogénicos dicha incorporación de reservas se ha completado, por lo cual no se observa un incremento importante del volumen del ovoplasma, y por tanto, en su talla. Con respecto a esto, Barber y Blake (1991) mencionan que el incremento del volumen del ovoplasma en los moluscos bivalvos ocurre como un proceso gradual que depende del tipo de reservas que están siendo incorporadas, es decir, el estado nutricional de los ovocitos. Tomando en cuenta esto, la relación que guardaron la talla de los ovocitos y los índices glucídico y lipídico tiene sentido. Sin embargo, la relación observada entre la talla y las áreas de cobertura de las gotas glucídicas y lipídicas en los ovocitos es contraria al patrón esperado en los ovocitos que están en plena vitelogénesis. Tal disparidad puede deberse al hecho de que los ovocitos, a medida que van aumentando en talla, reflejan una mayor superficie de absorción como resultado de la incorporación de las reservas que tienen como fin completar su carga nutricional. En este estudio, la carga nutricional se estudió por la incorporación de gotas glucídicas y lipídicas. Ángel-Dapa (2008) también encontró diferencias en la relación entre el índice lipídico vs la talla de los ovocitos y entre el contenido lipídico (área de cobertura) vs la talla de ovocitos en el callo de hacha *A. maura*. La explicación presentada en este estudio se respalda con lo mencionado por Rodríguez-Jaramillo (2004), respecto a que el índice lipídico refleja un porcentaje de la tasa de ocupación de lípidos con respecto a la

superficie de la imagen, la cual a su vez representa la distribución de los gránulos o gotas lipídicas en la superficie celular.

A diferencia de la gónada como tejido grueso, en los ovocitos en particular se observó que los índices lipídico y glucídico variaron con respecto a la estación, particularmente cuando se presentaron sus niveles más elevados. Este resultado podría explicarse tomando en cuenta que en la gónada se localizan estructuras de naturaleza celular y composición bioquímica muy variada, tales como la pared del cuerpo, capa de mucopolisacáridos, fibras de colágeno y musculares del tejido conectivo intersticial, células somáticas de almacenamiento, como las vesiculares del tejido conectivo (VCT) y las células auxiliares. En *P. mazatlanica*, Saucedo *et al.* (2002b) describieron una matriz densa de VCT en el tejido interconectivo de la gónada y la glándula digestiva. Estas células almacenan carbohidratos (glucógeno) principalmente, aunque también pueden contener gránulos lipídicos (Mathieu y Lubet, 1993). Tomando en cuenta esto, existe la posibilidad de que al cuantificar el contenido de lípidos y carbohidratos en el tejido gonadal, se tomaran en cuenta también la concentración absorbida por muchas de estas estructuras y células, en función de las tinciones aplicadas. Otro resultado que se detectó en los ovocitos en particular, y que difiere del patrón observado en la gónada, es la falta de evidencia de transferencia de lípidos desde la glándula digestiva para sustentar la ovogénesis. Ello debido a que los niveles del índice lipídico en los ovocitos no disminuyeron conforme avanzó la ovogénesis. Adicionalmente, se observó que el índice lipídico de los ovocitos disminuyó en invierno y primavera de 2006 (particularmente en primavera), cuando se registró el primer pico reproductivo.

Ello sugiere que la formación de gametos ocurrió a expensas de los lípidos tomados del alimento disponible, pues en invierno se registró la mayor concentración de clorofila *a*. Contrariamente, en verano, cuando se registró el segundo pico reproductivo, la concentración de lípidos volvió a aumentar, ocurriendo esta vez a expensas de las reservas almacenadas en la glándula digestiva.

Por otro lado, se observó que durante primavera, los niveles de carbohidratos del músculo aductor disminuyeron mientras que en los ovocitos el contenido de éstos aumentó, sugiriendo que este tipo de reservas fueron transferidas desde el músculo aductor hacia la gónada para el sustento de la gametogénesis. Lo anterior ya había sido descrito por Bayne (1976) para otras especies de bivalvos marinos, en las cuales el contenido de glucógeno en la gónada incrementa al mismo tiempo que disminuye el contenido de glucógeno del músculo aductor. Sin embargo, este resultado es contrario a lo reportado por Saucedo *et al.* (2002a) para *P. mazatlanica* en el sentido de que el pico de primavera se manifiesta a expensas de las proteínas del músculo aductor, en tanto que el pico de verano se expresa a partir de las reservas de carbohidratos del músculo. En el presente estudio el índice glucídico del músculo aductor mostró su máximo nivel durante otoño de 2006, cuando los organismos se encontraban predominantemente en estadio de postdesove. Por su parte, el contenido mínimo ocurrió en primavera del mismo año con organismos en desarrollo y madurez. Estos resultados difieren con los reportados por Saucedo *et al.* (2002a) y Vite-García (2005), quienes observaron un decremento en la

concentración de carbohidratos en el músculo aductor de *P. mazatlanica* en otoño durante las etapas de desove y postdesove.

Por su parte, en los túbulos seminíferos, a medida que transcurre la espermatogénesis, hay un aumento en el tamaño de los acinos a medida que los espermatozoides maduran y van incorporando reservas. En este estudio, se encontró una relación directamente proporcional entre el índice lipídico y la talla de los túbulos seminíferos, ya que durante la primavera de 2006, la talla máxima de túbulos seminíferos coincidió con el valor más alto del contenido de lípidos. Sin embargo, las correlaciones entre la talla de los túbulos seminíferos y los índices lipídico y glucídico no fueron significativas. Al respecto, Faveris y Lubet (1991) encontraron que en machos de *P. maximus* los picos en el contenido de lípidos correspondían al período de máximo alojamiento de los espermatozoides en los túbulos seminíferos, una vez finalizada la espermatogénesis. Respecto al contenido de lípidos y carbohidratos de los túbulos seminíferos y su relación con los tejidos somáticos, se observó que el nivel máximo del índice glucídico coincidió con el nivel máximo del músculo aductor durante otoño de 2006. Lo anterior sugiere que los carbohidratos de la gónada masculina fueron tomados del alimento ingerido, pues no se observó que disminuyeran los niveles de estos en el músculo aductor durante la misma estación. No se encontró relación entre los índices lipídico y glucídico de la gónada masculina con respecto al contenido de lípidos y/o carbohidratos de la glándula digestiva. Por otro lado, en los túbulos seminíferos, así como en la glándula digestiva y músculo aductor, se observó que el índice lipídico aumentó durante otoño de 2006, mientras que el índice glucídico disminuyó. Desde

tiempo atrás se demostró que los sustratos de glucógeno de los tejidos somáticos (músculo, glándula digestiva) o el alimento ingerido se pueden convertir fácilmente en reservas lipídicas a través de lipogénesis, la cual ocurre en la mayoría de las especies de bivalvos como una estrategia para regular la reproducción (Gabbott, 1975). Estudios posteriores con diferentes especies de bivalvos lo han confirmado (Barber y Blake, 1981; Epp *et al.*, 1988; Pazos *et al.*, 1997; Racotta *et al.*, 1998; Saucedo *et al.*, 2002a; Palacios *et al.*, 2005, entre otros). Si mediante la lipogénesis se satisfacen las demandas metabólicas de la vitelogenénesis, entonces la dinámica de los lípidos y triglicéridos puede ayudar a entender el por qué la fracción glicolipoprotéica de la molécula del vitelo constituye por excelencia la reserva básica para el sustento del desarrollo embrionario y larvario de la mayoría de las especies de bivalvos marinos (Holland, 1978; Gallager y Mann, 1986; Gallager *et al.*, 1986; Fraser, 1989). Con los resultados encontrados en el presente estudio se sugiere que los carbohidratos tomados del alimento ingerido fueron el combustible para iniciar la gametogénesis, vía conversión en lípidos y triglicéridos a través de lipogénesis, coincidiendo con lo reportado por Saucedo *et al.* (2002a) y Vite-García (2005) para la misma especie.

Finalmente, considerando los valores máximos en el contenido de reservas en el tejido gonadal de hembras y machos, así como en los tejidos somáticos, se puede determinar que los momentos energéticamente óptimos para la utilización de reproductores de *P. mazatlanica* en actividades de larvicultura para producción intensiva de semilla son durante primavera (primeramente) e invierno (en segundo lugar). En ambas estaciones los

organismos se encuentran en la etapa más activa de la gametogénesis, misma que es sustentada por las reservas tomadas del alimento en verano y por las reservas almacenadas en los tejidos somáticos en invierno. Con esto, se garantiza que los gametos, ovocitos particularmente, presentarán una óptima calidad en términos de su contenido lipídico.

## 9. CONCLUSIONES

- La biología reproductiva de *P. mazatlanica* en Bahía de La Paz durante el ciclo 2005–2006, estuvo influenciada principalmente por la temperatura del agua. La concentración de clorofila *a* no mostró un papel decisivo como mecanismo de control de la reproducción de la especie.
- En la gónada femenina, los niveles de lípidos en primavera coincidieron con una disminución del índice lipídico de la glándula digestiva, lo que sugiere que este tejido moviliza reservas de este tipo para el sustento de la gametogénesis. En la misma estación, la disminución del índice glucídico indica que los carbohidratos provinieron del músculo aductor.
- En machos, la concentración de carbohidratos en la gónada fue más importante que la de lípidos y sugiere una transferencia de este tipo de reservas desde el músculo aductor para sustentar la espermatogénesis.
- Entre machos y hembras las diferencias en el contenido de carbohidratos y lípidos se debieron a las necesidades energéticas asociadas con el costo de producción de ovocitos (lípidos) y de espermatozoides (carbohidratos).
- En ovocitos, el almacenamiento de lípidos y carbohidratos ocurrió de manera diferencial, proviniendo de las reservas almacenadas en invierno y los segundos desde el músculo aductor.
- En túbulos seminíferos, no se encontró relación con el índice glucídico del músculo aductor y se sugiere que los niveles de carbohidratos provinieron del alimento ingerido.

- El papel del músculo aductor para la movilización de carbohidratos fue primordial. Se sugiere un mecanismo de lipogénesis para convertir los carbohidratos almacenados en el músculo aductor o del alimento ingerido en reservas lipídicas que satisfagan las demandas metabólicas de la gametogénesis.
- Tanto el índice glucídico como lipídico mostraron ser indicadores confiables de calidad de gametos (particularmente de ovocitos).
- Los momentos energéticamente óptimos para la utilización de reproductores de *P. mazatlanica* en actividades de larvicultura y producción de semilla son durante la primavera (primeramente) e invierno (en segundo lugar), ya que durante estas estaciones la calidad de la gónada y tejidos somáticos es la más alta.
- Se sugieren más estudios con histoquímica y análisis digital de imágenes dirigidos a establecer la relación entre la calidad de los gametos y la viabilidad y supervivencia larvaria de la especie.
- Asimismo, se sugiere un análisis mas profundo del contenido lipídico de los ovocitos, ya que al dejar fuera la fracción correspondiente a los fosfolípidos, se están subestimando muchos aspectos de la dinámica de incorporación de reservas lipídicas al huevo durante la vitelogénesis.

## 10. LITERATURA CITADA

- Acosta-Salmón, H., 2004. Broodstock management and egg quality of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *Pinctada fucata*. **PhD Thesis**, James Cook University, Townsville, Australia. 140 pp.
- Agius, C. y R. J. Roberts, 2003. Melano-macrophages centres and their role in fish pathology. **J. of Fish Dis.**, 26: 499-509.
- Alagarswami, K., S. Dharmaraj, A. Chellam y T. S. Velayudhan, 1989. Larval and juvenile rearing of pearl oyster *Pinctada margaritifera* (Linnaeus). **Aquac.**, 76: 43-56.
- Alagarswami, K., S. Dharmaraj, T. S. Velayudhan, A. Chellam, A. C. C. Victor y A. D. Gandhi, 1983. Larval rearing and production of spat of pearl oyster *Pinctada fucata* (Gould). **Aquac.**, 34: 287-301.
- Aldana-Avilés, C. 1998. Evaluación de la captación de semilla, crecimiento y supervivencia de juveniles de *Pteria sterna* (Gould, 1851), en tiempos diferentes de preengorda, en El Merito, Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. **Tesis de Licenciatura**, Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, BCS.
- Allais, J. P., J. Berferard, J. Etienne y J. Polonovski, 1964. Nature et evolution des lipids au cours de l'embryogenes de *Locusta migratoria migratorioides* L. **J. Insect Physiol.** 10: 753-772.
- Ansell, A. D., 1974. Seasonal changes in biochemical composition of the bivalve *Chlamys septemradiata* from the Clyde Sea area. **Mar. Biol.**, 25: 85-99.

- Arellano-Martínez, M., I. S. Racotta, B. P. Ceballos-Vázquez y J. F. Elorduy-Garay, 2004. Biochemical composition, reproductive activity and food availability of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* in the Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México. **J. of Shellfish Res.**, 23 (1): 15-23.
- Arizmendi-Castillo, E. 1996. Ciclo reproductivo de las ostras perleras, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) y *Pteria sterna* (Gould, 1851), (PTERIIDAE), en el área de Guaymas, Sonora, México. **Tesis de Maestría**, ITESM. Guaymas, Sonora. 140 pp.
- Atlan, G., N. Balmain, S. Berland, B. Vidal y E. López, 1997. Reconstruction of human maxillary defects with nacre powder: Histological evidence for bone regeneration. **Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/Life Sciences**, 320: 253-258.
- Barber, B. J. y N. J. Blake, 1981. Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). **J. of Exp. Mar. Biol. and Ecol.**, 52: 121-134.
- Barber, B. J. y N. J. Blake, 1983. Growth and reproduction of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck) and its Southern distributional limit. **J. of Exp. Mar. Biol. and Ecol.**, 66: 247-256.
- Barber, B. J. y N. J. Blake, 1991. Reproductive physiology. En: Shumway, S. E. (ed.), **Scallops: Biology, ecology and aquaculture**. 1st Edition, Elsevier. Netherlands. Pp. 378-428.
- Bayliss, H. O., 1984. **Lipid histochemistry**. Department of pathology, Guy's Hospital Medical School London, Oxford University Press. 68 pp.

- Bayne, B. L., 1976. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. En: Wiley, M. L. (ed.), **Estuarine Processes**. Academic Press, New York. pp. 432-448.
- Bayne, B. L. y R. C. Newell, 1983. Physiological energetics of marine mollusks. En: Wilburg, K.M., Saleuddin, A.S.M. (eds.), **The Mollusca**, Vol. 4. Academic Press, Londres, pp. 407-415.
- Bayne, B. L., A. Bubel, P. A. Gabbott, D. R. Livingstone, D. M. Lowe y M. N. Moore, 1982. Glycogen utilization and gametogenesis in *Mytilus edulis* L. **Mar. Biol. Lett.**, 3: 89-105.
- Behzadi, S., K. Parivar y P. Roustaian, 1997. Gonadal cycle of pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould) in Northeast Persian Gulf, Iran. **J. of Shellfish Res.**, 16 (1): 129-135.
- Bervera-León, H., 2002. Distribución y abundancia espacio-temporal de semilla de *Pinctada mazatlanica* (Bivalvia: Pteriidae) en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. **Tesis de maestría**, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del I.P.N.
- Besnard, J. Y., 1991. Seasonal variations in the lipids and fatty acids of the female gonad of the scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758) in the Bay of Seine (French Channel). En: Shumway, S. E. y P. A. Sandifer (eds.), **An International Compendium of Scallop Biology and Culture**. The World Aquaculture Society, USA. pp. 74-86.
- Bombonato, M. T. S., S. S. Rochel y C. A. Vicentini, 2007. Morphological study of the hepatic tissue of *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, 29 (1): 81-85.

- Briegel, H., 1990. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. **J. Insect Physiol.**, 36: 165–172.
- Brokordt, K. B. y H. E. Guderley, 2004. Energetic requirements during gonad maturation and spawning in scallops: sex differences in *Chlamys islandica* (Müller, 1776). **J. of Shellfish Res.**, 23: 25-32.
- Cáceres-Martínez, C., C. Ruíz-Verdugo y D. Ramírez-Filippini, 1992. Experimental collection of pearl Oyster, *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna*, spat on a filament substrate. **J. of Aquac. Soc.**, 23: 232-240.
- Cáceres-Puig, J. I., 2007. Dinámica anual del esfuerzo reproductivo de *Pteria sterna* (Gould, 1851) en la Bahía de La Paz, B. C. S., México. **Tesis de Maestría**, Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste, S. C., Baja California Sur. 88 pp.
- Cariño, M. M. y M. Monteforte, 1995. History of pearling in the Bay of La Paz, South Baja California, México (1533-1914). **Gems and Gemol.**, 31: 88-108.
- Cariño, M. M. y M. Monteforte, 1999. **El primer emporio perlero del mundo: La Compañía Criadora de Concha y Perla de Baja California, S. A., y perspectivas para Baja California Sur**. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, B. C. S. 325 pp.
- Couturier, C. Y. y G. F. Newkirk, 1991. Biochemical and gametogenic cycles in scallops, *Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791), held in suspension culture. En: Shumway, S. E. y P. A. Sandifer (eds.), **An International Compendium of Scallop Biology and Culture**. The World Aquaculture Society, USA. pp. 107-117.

- Desai, K., G. Hirani y D. Nimavat, 1979. Studies on the pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould): Seasonal Biochemical Changes. **Indian J. of Mar. Sc.**, 8 (1): 49-50.
- Dharmaraj S., T. S. Vellayudhan, A. Chellam, A. C. C. Victor y C. P. Gopinathan, 1991. Hatchery production of pearl oyster spat *Pinctada fucata*. **Bulletin Central Marine Fishery Research Institute (CMFRI)**, Cochin, India. Publicación Especial 49.
- Diario Oficial de la Federación, 1994. Norma Oficial de la Federación. **Norma Oficial del Gobierno de los Estados Unidos Mexicanos NOM-059-ECOL-1994** que clasifica a las ostras perleras como especies bajo protección especial. Gobierno Federal, México, 2 pp.
- Doroudi M. S., P. C. Southgate y R. J. Mayer, 1999. The combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of the black-lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (L.). **Aquac. Res.**, 30: 271–277.
- Enríquez-Díaz, M., C. Cáceres-Martínez, J. Chávez-Villalba, G. Le Pennec y M. Le Pennec, 2003. Gametogenesis of *Atrina maura* (Bivalve: Pinnidae) under artificial conditions. **Invert. Reprod. Devel.**, 43 (2): 151-161.
- Epp, J., V. M. Bricelj y R. E. Malouf, 1988. Seasonal partitioning and utilization of energy reserves in two age classes of the bay scallop *Argopecten irradians* (Lamarck). **J. of Exp. Mar. Biol. and Ecol.**, 121: 113-136.
- FAO, 2001. 1999 Fisheries statistics: Capture production. Vol. 82/1. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Fassler, R. C., 1991. Farming jewels: the aquaculture of pearls. **Aquac. Mag.**, 34-52.

- Fassler, R. C., 1995. Farming jewels: new development in pearl farming. *World Aquac.*, 26: 5-10.
- Fassler, C. R., 1997. **Opportunities for investing in pearl farming.** World Aquaculture Society, World Aquaculture '97 Book of Abstracts. **Seattle, WA, U.S.A, Feb. 19–23 1997.**
- Faveris, R. y P. Lubet, 1991. Energetic requirements of the reproductive cycle in the scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758) in Baine de Seine (Channel). En: Shumway, S. E. y P. A. Sandifer (eds.), **An International Compendium of Scallop Biology and Culture.** The World Aquaculture Society, USA. pp. 67-73.
- Fraser, A. J., 1989. Triacylglycerol content as a condition index for fish, bivalve, and crustacean larvae. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, 46: 1868-1873.
- Gabbott, P. A., 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs: A hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. En: Barnes, H. (ed.), **Proceedings of the 9<sup>th</sup> European Marine Biology Symposium.** Aberdeen University Press, Aberdeen Scotland. pp. 191-211.
- Gabbott, P. A., 1976. Energy metabolism. En: Bayne, B. L. (Ed.), **Marine Mussels: Their Ecology and Physiology.** Cambridge University Press, England. pp. 293-355.
- Gabbott, P. A., 1983. Development and seasonal metabolic activities in marine molluscs. En: Hochachka, P. W. (Ed.), **The Mollusca**, Vol. 2, Environmental Biochemistry and Physiology. Academic Press, New York. pp. 165-217.

- Gallager, S. M. y R. Mann, 1986. Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea gigas* (Gmelin) relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. **Aquac.**, 56: 105-121.
- Gallager, S. M., R. Mann y G. C. Sasaki, 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. **Aquac.**, 56: 81-103.
- García-Cuellar, J.A., García-Domínguez, F., Lluch-Belda, D., Hernández-Vázquez, S., 2004. El Niño and La Niña effects on reproductive cycle of the peral oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Pteriidae) at Isla Espíritu Santo in the Gulf of California. **J. of Shellfish Res.**, 23: 113-120.
- García-Domínguez, F., B. P. Ceballos-Vázquez y A. Tripp, 1996. Spawning cycle of the pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), (Pteriidae) at Isla Espíritu Santo, Baja California Sur, México. **J. of Shellfish Res.**, 15 (2): 297-303.
- Gaytán-Mondragón, I., C. Cáceres-Martínez, y M. Tobías-Sánchez, 1993. Growth of the pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* in different culture structures at La Paz Bay, Baja California Sur, México. **J. of World Aquac. Soc.**, 24: 541-546.
- Gervis, M. y N. Sims, 1992. **Biology and culture of pearl oysters (Bivalvia: Pteriidae)**. Overseas development administration of the United Kingdom. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines. 49 pp.
- Giese, A.C., 1969. A new approach to the biochemical composition of mollusc body. **Mar. Biol. Ann. Rev.**, 7: 175-229.

- Giese, A. C. y J. S. Pearse, 1974. **Reproduction of marine invertebrates**. Academic Press, New York. pp. 1-21.
- Gómez-Robles, E., C. Rodríguez-Jaramillo, y P. E. Saucedo, 2005. Digital image analysis of lipid and protein histochemical markers for measuring oocyte development and quality in pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856). **J. of Shellfish Res.**, 24: 1197-1202.
- Holguín-Quiñónez, \_\_\_ y \_\_\_ González-Pedraza, 1994. Moluscos de la franja costera de Michoacán, Colima y Jalisco, México. Instituto Politécnico Nacional (IPN). 133 pp.
- Holland, D. L., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. **Biochem. Biophys. Perspect. Mar. Biol.**, 4: 85-123.
- Howard, D. W. y C. Smith, 1983. **Histological techniques for marine bivalve mollusks**. U.S. Dep. Comm., NOAA, Tech. Mem. NMFS-F/NEC-25.
- Humason, G. L., 1979. **Animal tissue techniques**. W. H. Freeman and Company, USA. 649 pp.
- Hur, J. W., J. H. Jo y I. S. Park, 2006. Effects of starvation and feeding on liver structure of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). **Ichthyological Research**, in press.
- Kang, C. K., M. S. Park, P. Y. Lee, W. J. Choi y W. C. Lee, 2000. Seasonal variations in condition, reproductive activity, and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in two coastal bays of Korea. **J. of Shellfish Res.**, 19: 771-778.

- Kawooya, J. K., E. O. Osir y J. H. Law, 1988. Role of lipophorin in lipid transport to the insect egg. **J. Biol. Chem.**, 163: 8748–8753.
- Keen, M., 1979. **Seashells of the Tropical West America**. Stanford University Press, Stanford, California, 1068 pp.
- Kiefert, L., D. McLaurin-Moreno, E. Arizmendi-Castillo, H. A. Hänni y S. Elen, 2004, Cultured pearls from the Gulf of California, Mexico. **Gems & Gemology**, 40: 26-38.
- Lamghari M., M.J. Almeida, S. Berland, H. Huet, A. Laurent, C. Milet y E. López. 1999. Stimulation of bone marrow cells and bone formation by nacre: *in vivo and in vitro studies*. **Bone**, 25: 91-94.
- Lango-Reynoso, F., J. Chávez-Villalba, J. C. Cochard, y M. Le Pennec, 2000. Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). **Aquac.**, 190: 183-199.
- Lannan, J. E., A. Robinson y W. P. Breese, 1980. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. II. Broodstock conditioning to maximize larval survival. **Aquac.**, 21: 337-345.
- Le Pennec, M., R. Robert y M. Avendaño, 1998. The importance of gonadal development on larval production in pectinids. **J. of Shellfish Res.**, 17 (1): 97-101.
- Leonardos, M. y I. A. N. Lucas, 2000. The use of larval fatty acids as an index of growth in *Mytilus edulis* L. larvae. **Aquac.**, 184: 155-166.
- Lodeiros, C. J., J. J. Rengel, H. E. Guderley, O. Nusetti y J. H. Himmelman, 2001. Biochemical composition and energy allocation in the tropical

- scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* during the months leading up to and following the development of gonads. **Aquac.**, 199: 63-72.
- Lucas, J. S. y P. C. Southgate, 2005. **Aquaculture: Farming aquatic animals and plants**. Fishing News Book, Blackwell Publishing comp., Australia. 495 pp.
- MacDonald, B. A., R. J. Thompson y B. L. Bayne, 1987. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus* IV. Reproductive effort, value and cost. **Oecologia**, 72: 550-556.
- MacDonald, B. A. y R. J. Thompson, 1985. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. II. Reproductive output and total production. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 25: 295-303.
- Mackie, G. L., 1984. Bivalves. En: Wilburg, K. M. (ed.), **The Mollusca**. Vol. 7. Reproduction. Academic Press, New York. pp. 351-417.
- Martínez, G. y L. Mettifogo, 1998. Mobilization of energy from adductor muscle for gametogenesis of the scallop, *Argopecten purpuratus* Lamarck. **J. of Shellfish Res.**, 17 (1): 113-116.
- Martínez-Fernández, E., H. Acosta, C. Rangel, A. Olivera, H. Ruíz y A. K. Romo, 2003. Spawning and larval culture of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* in the laboratory. **World Aquac.** (March): 36-39.
- Micale, V. y F. Perdichizzi, 1990. A quantitative and histochemical study on melano-macrophages centres in the spleen of the teleost fish *Diplodus annularis* L. **J. of Fish Biol.**, 37 (2): 191-197.

- Monteforte, M., 1990. Ostras perleras y perlicultura: Situación actual en los principales países productores y perspectivas para México. *Serie Científica. UABCS* 1: 13-18.
- Monteforte M., H. Bervera-León, V. Pérez-Nevarez, P. E. Saucedo y H. Wright-López, 1994. Results on the production of pearls in *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* from Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. En: **Libro de Resúmenes, World Aquaculture Conference (Pearls '94)**, Honolulu, Hawaii.
- Monteforte, M., E. Kappelman-Piña y B. López-Espinosa, 1995. Spatfall of pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia:Pteriidae) in Bahía de La Paz, South Baja California, México. **Aquac. Res.**, 26: 497-511.
- Monteforte, M., 1996. Cultivo de ostras perleras y perlicultura. En: Casas-Valdez, M. y G. Ponce-Díaz (eds.), *Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur*. FAO, México. pp. 571-613.
- Monteforte M. y M. M. Cariño, 1992. Exploration and evaluation of Natural Stocks of Pearl Oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae) in La Paz Bay, Sudcalifornia México. **AMBIO, Journal of Human Environment**, 24: 314–320.
- Monteforte, M. y A. García-Gasca, 1994. Spat collection studies on pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae) in Bahía de La Paz, South Baja California, México. **Hydrobiología**, 291: 21-34.

- Monteforte, M., E. Kappelman-Piña y B. López-Espinosa, 1995. Spatfall of pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia:Pteriidae) in Bahía de La Paz, South Baja California, México. **Aquac. Res.**, 26: 497-511.
- Monteforte M., C. Aldana-Avilés, H. Bervera-León, P. E. Saucedo y H. Wright-López, 1996. Comparison of growth and survival of mabe implanted and non-implanted individuals of *Pteria sterna* and *Pinctada mazatlanica* in Bahía de La Paz, South Baja California, México. En: **Libro de Resúmenes, World Aquaculture Conference**, Bangkok, Tailandia.
- Monteforte, M., H. Bervera, J. J. Ramírez y P. E. Saucedo, 2005. Effect of stocking density on growth and survival of the rainbow pearl oyster *Pteria sterna* (Gould 1852) during nursery and late culture in Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. **Aquac. Int.**, 14 13: 391-407.
- New, M. B., 1997. Aquaculture and the capture fisheries: balancing the scales. En: J. S. Lucas y P. C. Southgate (eds), **Aquaculture: Farming aquatic animals and plants**. Fishing News Book, Blackwell Publishing comp., Australia. 495 pp.
- Palacios, E., I. S. Racotta, E. Kraffe, Y. Marty, J. Moal y J. F. Samain, 2005. Lipid composition of the giant lion's paw scallop (*Nodipecten subnodosus*) in relation to gametogenesis. I. Fatty acids. **Aquac.**, 250: 270-282.
- Palacios, E., I. S. Racotta, O. Arjona-Leyva, Y. Marty, J. R. Le Coz, J. Moal y J. F. Samain, 2007. Lipid composition of the pacific lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus* in relation to gametogenesis. II. Lipid classes and sterols. **Aquac.**, 266: 266-273.

- Paulet, Y. M. y J. Boucher, 1991. Is reproduction mainly regulated by temperature or photoperiod in *Pecten maximus*? **Inv. Rebro. Dev.**, 19: 61-70.
- Pazos, A. J., G. Román, C. P. Acosta, M. Abad y J. L. Sánchez, 1996. Influence of the gametogenic cycle on the biochemical composition of the ovary of the great scallop. **Aquac. Int.**, 4: 201-213.
- Pazos, A. J., G. Román, C. P. Acosta, M. Abad y 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.
- Pereira-Mouries, L., M. J. Almeida, S. Berland y E. López, 2002. Bioactivity of nacre water-soluble organic matrix from *Pinctada maxima* in three mammalian cell types: fibroblasts, bone marrow, and osteoblasts. **Comp. Biochem. Physiol.**, 132B: 217-229.
- Racotta, I. S., E. Palacios y A. M. Ibarra, 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. **Aquac.**, 227: 107-130.
- Racotta, I. S., J. L. Ramírez, S. Ávila y A. M. Ibarra, 1998. Biochemical composition of gonad and muscle in the catarina scallop, *Argopecten ventricosus*, after reproductive conditioning under two feeding systems. **Aquac.**, 163: 111-122.
- Robinson, W. E., W. E. Wehling, M. P. Morse y G. C. McLeod, 1981. Seasonal changes in soft-body component indices and energy reserves in the

- Atlantic deep-sea scallop, *Placopecten magellanicus*. **Fish. Bull.**, 79 (3): 449-458.
- Rodríguez-Jaramillo, M. C., 2004. Efecto de la temperatura sobre la gametogénesis en el callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae). **Tesis de Maestría**, CICIMAR-IPN. La Paz, B. C. S., México. 74 pp.
- Rodríguez-Jaramillo, C., M. A. V. Hurtado, J. L. Ramírez, A. M. Ibarra y E. Palacios, 2006. The reproductive biology of *Crassostrea corteziensis* in Ceuta Bay Sinaloa. En: E. Palacios, C. Lora, A. M. Ibarra, A. Maeda, I. Racotta (eds.). Recent advances in reproduction, nutrition, and genetics of mollusks. **Proceedings of the international workshop on reproduction and nutrition on mollusks**, La Paz, México, 6-9 November 2006. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, 22 pp.
- Román, G., G. Martínez, O. García y L. Freites, 2001. Reproducción. En: Maeda-Martínez, A. N. (ed.), **Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura**. Editorial Limusa, México, pp. 27-60.
- Rose, R. A. y S. B. Baker, 1994. Larval and spat culture of the Western Australian silver or gold-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* Jameson (Mollusca: Pteriidae). **Aquac.**, 126: 35-50.
- Rose, R. A., R. Dybdhal y S. Harders, 1991. Reproductive cycle of the Western Australian silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteriidae). **J. of Shellfish Res.**, 9: 261-272.

- Saout, C., C. Quèrè, A. DOnval, Y. M. Paulet y J. F. Samain, 1999. An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the Bay of Brest (France). **Aquac.**, 172: 301-314.
- Sastry, A. N., 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). En: Giese, A. C. y J. S. Pearse (eds.), **Reproduction of marine invertebrates**. Academic Press, New York. pp. 113-292.
- Sastry, A. N. y N. J. Blake, 1971. Regulation of gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamark. **Biol. Bull.**, 140: 274-282.
- Saucedo, P., 2001. Investigación aplicada al acondicionamiento gonadal y reproducción de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) en el laboratorio. **Tesis Doctoral**, CIBNOR. La Paz, B. C. S., México. 186 pp.
- Saucedo, P. y M. Monteforte, 1997. Breeding cycle of pearl oysters *Pinctada mazatlanica* (Hanley 1856) and *Pteria sterna* (Gould 1851) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. **J. of Shellfish Res.**, 16: 103-110.
- Saucedo, P., C. Rodríguez y M. Monteforte, 2002a. Microscopic anatomy of gonadal tissue and storage cells associated with oogenesis and spermatogenesis in *Pinctada mazatlanica*. **J. of Shellfish Res.**, 21: 213-222.
- Saucedo, P., I. Racotta, H. Villarreal y M. Monteforte, 2002b. Seasonal changes in the histological and biochemical profile of the gonad, digestive gland, and muscle of the Calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) associated with gametogenesis. **J. of Shellfish Res.**, 21 (1): 127-135.

- Saucedo, P. E., H. Bervera-León, M. Monteforte, P. C. Southgate y P. Monsalvo-Spencer, 2005. Factors influencing recruitment of hatchery reared pearl oyster (*Pinctada mazatlanica*; Hanley 1856) spat. **J. of Shellfish Res.**, 24 (1): 215-219.
- Saucedo, P. E., P. Ormart-Castro y M. Osuna-García, 2007. Towards development of large-scale hatchery cultivation of larvae and spat of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* in Mexico. **Aquac.**, 273: 478-486.
- Saucedo, P.E., Southgate, P.C. 2008. Reproduction and Growth. En: Southgate, P. C. y J. S. Lucas (eds.), **The Pearl Oyster: Biology and Culture**. Cap. 5. Elsevier Science Publishers, Australia (ISBN 0444529764).
- Sevilla, M. L., 1969. Contribución al conocimiento de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1845). **Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural**, 30: 223-262.
- Shaw, B. L. y H. I. Battle, 1957. The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). En: Howard, D. W. y C. Smith (eds.), **Histological techniques for marine bivalve molluscs**. U. S. Dep. Comm. NOAA Tech. Memo. NMFS-F/NEC-25. 95 pp.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf, 1981. **Biometry**. W. H. Freeman, USA. 922 pp.
- Southgate, P. C. y A. C. Beer, 1997. Hatchery and early nursery culture of the blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.). **J. Shellfish Res.**, 16: 561-567.

- Southgate, P. C., J. J. Taylor y M. Ito, 1998a. The effect of egg density on hatch rate of pearl oyster (*Pinctada maxima* and *Pinctada margaritifera*) larvae. **Asian Fish. Sc.**, 10: 265–268.
- Southgate, P. C., A. C. Beer, P. F. Duncan y R. Tamburri, 1998b. Assessment of the nutritional value of three species of tropical microalgae dried *Tetraselmis* and yeast-based diet for larvae of the black-lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (L.). **Aquaculture**, 162: 247–257.
- Taylor, J. J., 1999. Spat production, nursery rearing and grow-out of the silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson). **Ph. D Thesis**, James Cook University of North Queensland, Australia.
- Taylor, A. C. y 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. U.K.**, 59: 605-621.
- Tranter, D. J., 1958a. Reproduction in Australian pearl oysters (Lamellibranchia). I. *Pinctada albina* (Lamarck): Primary gonad development. **Austr. J. Mar. Freshwater Res.**, 9: 135-143.
- Tranter, D. J., 1958b. Reproduction in Australian pearl oysters (Lamellibranchia). II. *Pinctada albina* (Lamarck): Gametogenesis. **Austr. J. Mar. Freshwater Res.**, 9: 144-158.
- Tranter, D. J., 1958c. Reproduction in Australian pearl oysters (Lamellibranchia). III. *Pinctada albina* (Lamarck): Breeding season and sexuality. **Austr. J. Mar. Freshwater Res.**, 9: 191-216.

- Tranter, D. J., 1958d. Reproduction in Australian pearl oysters (Lamellibranchia). IV. *Pinctada margaritifera* (L.). **Austr. J. Mar. Freshwater Res.**, 9: 509-523.
- Tranter, D. J., 1959. Reproduction in Australian pearl oysters (Lamellibranchia). V. *Pinctada fucata* (Gould). **Austr. J. Mar. Freshwater Res.**, 10: 45-66.
- Troy, S., W. A. Anderson y A. Spielman, 1975. Lipid content of maturing ovaries of *Aedes aegypti* mosquitoes. **Comp. Biochem. Physiol.**, 50-B: 457-461.
- Victor, A. C. C., A. Chellam, S. Dharmaraj y T. S. Velayudhan, 1995. Manual on pearl oyster seed production, farming and pearl culture. **Central Marine Fisheries Research Institute (CMFRI), Special Publication, No. 63.** India. 53 pp.
- Vidussi, F., H. Claustre, J. Bustillos-Guzmán, C. Cailiau y J. C. Marty, 1996. A rapid HPLC method for the determination of phytoplankton pigments in natural waters including the separation of chlorophyll a from divinyl-chlorophyll a and zeaxanthin from lutein. **J. of Plankton Res.**, 18:2377-2382.
- Vite-García, M. N. 2005. Variaciones estacionales en el uso de reservas energéticas entre los tejidos relacionados con la gametogenesis en las ostras perleras *Pteria sterna* (Gould, 1851) y *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856). *Tesis de Maestría*, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, México.
- Vite-García, M. N. y P. E. Saucedo, 2008. Energy storage and allocation during reproduction of pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. **J. of Shellfish Res.**, 27 (2): 375-383.

- Wright-López, H. 1997. Ecología de la captación de semilla de Madreperla, *Pinctada mazatlanica* y Concha Nácar, *Pteria sterna* (Bivalvia, Pteriidae), en Isla Gaviota, Bahía de La Paz, B.C.S., México. **Tesis de maestría**, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del I.P.N.
- Ziegler, R. y R. Van Antwerpen, 2006. Lipid uptake by insect oocytes. **Insect Biochem. Molec. Biol.**, 36: 264-272.

## 11. ANEXOS

### A. Preparación de la solución Davidson (Shaw y Battle, 1957).

#### Para 1 L de solución:

Glicerina	100 ml
Formaldehído (37-40%)	200 ml
Alcohol etílico (96%)	300 ml
Agua de mar filtrada	300 ml
Ácido acético	100 ml

**B. Técnica histológica convencional para cortes en parafina** (Howard y Smith, 1983).

**Deshidratación y aclaramiento**

Alcohol etílico 70° I	1 hora
Alcohol etílico 70° II	1 hora
Alcohol etílico 80°	1 hora
Alcohol etílico 90°	1 hora
Alcohol etílico 96°	1 hora
Alcohol etílico 100° I	1 hora
Alcohol etílico 100° II	1 hora
Alcohol etílico 100°/ Xilol (1:1)	20 minutos
Xilol absoluto	5 minutos

**Inclusión en parafina**

Parafina/ Xilol (1:1)	45 minutos
Parafina I	1 hora
Parafina II	1 hora
Parafina III	1 hora
Parafina IV (centro de inclusión)	1 hora

**C. Técnica de tinción hematoxilina-eosina (Humason, 1979).**

Xilol	3 cambios de 10 minutos c/u
Alcohol etílico 96°	2 minutos
Alcohol etílico 70°	2 cambios de 2 minutos c/u
Agua destilada	5 minutos
Hematoxilina de Harris	1-2 minutos
Agua destilada	2 cambios de 5 minutos c/u
Alcohol ácido	10 segundos
Agua destilada	5 minutos
Alcohol etílico 50°	2 minutos
Alcohol etílico 70°	2 minutos
Eosina-floxina	3 minutos
Alcohol etílico 96°	2 cambios de 2 minutos c/u
Alcohol etílico 100°	2 cambios de 1 minuto c/u
CitriSolv	2 cambios de 5 minutos c/u
Montaje con resina sintética	

**Resultados:**

Núcleos	Azul
Nucléolos	Azul
Citoplasma	Rosa o naranja
Tejido conjuntivo	Rosa

**D. Técnica de tinción Sudan negro B para cortes en parafina (Bayliss, 1984).**

**Soluciones:**

Solución de sudan negro B a saturación, en alcohol etílico al 70%.

Xilol	3 cambios de 10 minutos c/u
Alcohol etílico 96°	2 minutos
Alcohol etílico 70°	2 cambios de 2 minutos c/u
Agua destilada	5 minutos
Colocar los cortes en alcohol 70%	5 minutos
Teñir con la solución Sudán negro B	5 minutos
Diferenciar en alcohol 70%	1 minuto
Lavar en agua corriente	
Lavar en agua destilada	
Montar en gelatina glicerinada	

**Resultados:**

Triglicéridos	Azul a negro
Fosfolípidos	Gris

**E. Técnica de tinción Azul alciano-Schiff para mucopolisacáridos neutros y ácidos (Bayliss, 1984).**

**Soluciones:**

Reactivo de Schiff.  
 Ácido acético al 3%.  
 Solución de azul alciano.  
 Solución de ácido periódico al 0.5%.  
 Agua sulfurosa

Xilol	3 cambios de 10 minutos c/u
Alcohol etílico 96°	2 minutos
Alcohol etílico 70°	2 cambios de 2 minutos c/u
Lavar en agua destilada	
Teñir con azul alciano acético	24 minutos
Lavar en agua destilada	2 minutos
Colocar en ácido periódico al 0.5%	10 minutos
Lavar en agua corriente	5 minutos
Enjuagar en agua destilada	
Pasar por reactivo de Schiff	30 minutos (en refrigeración)
Pasar por solución sulfurosa	3 cambios de 2 minutos c/u
Lavar en agua corriente	5 minutos
Lavar en agua destilada	2 minutos
Deshidratar en alcohol 96 I y II	1 minuto c/u
Deshidratar en alcohol 100 I y II	1 minuto c/u
Aclarar en xilol	3 cambios de 5 minutos c/u
Montar con resina sintética	

**Resultados:**

Mucopolisacáridos ácidos	Azul
Mucopolisacáridos neutros	Magenta
Sustancia cartilaginosa, mucina epitelial	Tonalidades de púrpura a azul oscuro

**F. Tabla III.** Variaciones estacionales de las principales componentes celulares de la gónada femenina de *P. mazatlanica* durante el ciclo 2005-2006. ITG = índice de tejido gonadal; AO = área ovocito; DT = diámetro teórico;  $\Sigma$ ACC/L = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma$ DCC/L = sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma$ PCC/L = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos; IG/IL = índice glucídico/lipídico en ovocitos. Se presenta la media  $\pm$  error estándar.

	2005		2006	
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
<b>Carbohidratos</b>				
ITG (%)	4.38 $\pm$ 1.17	7.59 $\pm$ 1.25	5.54 $\pm$ 1.69	6.71 $\pm$ 1.29
AO ( $\mu\text{m}^2$ )	931.89 $\pm$ 15.26	1328.18 $\pm$ 14.13	1307.45 $\pm$ 17.11	1407.54 $\pm$ 16.56
DT ( $\mu\text{m}$ )	34.191 $\pm$ 2.06	41.01 $\pm$ 1.76	40.53 $\pm$ 2.17	42.13 $\pm$ 2.04
$\Sigma$ ACC ( $\mu\text{m}^2$ )	332.31 $\pm$ 10.04	359.65 $\pm$ 10.36	503.81 $\pm$ 14.73	529.11 $\pm$ 3.37
$\Sigma$ DCC ( $\mu\text{m}$ )	153.69 $\pm$ 8.45	271.80 $\pm$ 8.14	159.42 $\pm$ 9.96	17078.67 $\pm$ 128.37
$\Sigma$ PCC ( $\mu\text{m}^2$ )	787.00 $\pm$ 16.35	1012.62 $\pm$ 15.94	606.90 $\pm$ 19.67	824.43 $\pm$ 20.03
IG (%)	35.85 $\pm$ 2.64	27.11 $\pm$ 2.67	39.49 $\pm$ 4.13	37.55 $\pm$ 3.34
<b>Lípidos</b>				
ITG (%)	14.03 $\pm$ 2.32	17.43 $\pm$ 1.99	17.62 $\pm$ 2.01	13.22 $\pm$ 1.46
AO ( $\mu\text{m}^2$ )	1003.17 $\pm$ 15.72	1328.52 $\pm$ 13.46	1326.56 $\pm$ 15.61	1406.94 $\pm$ 17.09
DT ( $\mu\text{m}$ )	35.48 $\pm$ 2.09	41.34 $\pm$ 1.81	40.92 $\pm$ 1.96	42.10 $\pm$ 2.09
$\Sigma$ ACL ( $\mu\text{m}^2$ )	395.17 $\pm$ 11.01	450.35 $\pm$ 12.73	460.40 $\pm$ 1.26	513.50 $\pm$ 12.10
$\Sigma$ DCL ( $\mu\text{m}$ )	113.34 $\pm$ 6.59	155.27 $\pm$ 7.39	175.90 $\pm$ 8.15	177.10 $\pm$ 7.94
$\Sigma$ PCL ( $\mu\text{m}^2$ )	536.47 $\pm$ 13.88	704.32 $\pm$ 14.22	776.31 $\pm$ 16.98	845.41 $\pm$ 16.42
IL (%)	39.58 $\pm$ 2.81	33.69 $\pm$ 3.31	19.98 $\pm$ 3.64	36.81 $\pm$ 2.86

**G. Tabla IV.** Variaciones estacionales de los principales componentes celulares de la gónada masculina de *P. mazatlanica* durante el ciclo 2005-2006. ITG = índice de tejido gonadal; AT = área túbulo seminífero;  $\Sigma$ ACC/L = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma$ DCC/L = sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma$ PCC/L = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos; IG/IL = índice glucídico/lipídico en gónada masculina. Se presenta la media  $\pm$  error estándar.

Carbohidratos	2005	2006			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
ITG (%)	8.58 $\pm$ 1.38	8.08 $\pm$ 1.64	10.55 $\pm$ 1.75	9.44 $\pm$ 1.57	7.63 $\pm$ 1.53
AT ( $\mu\text{m}^2$ )	13637.24 $\pm$ 89.75	21101.15 $\pm$ 120.54	32712.27 $\pm$ 140.20	22022.54 $\pm$ 130.90	26194.73 $\pm$ 114.36
$\Sigma$ ACC ( $\mu\text{m}^2$ )	2943.05 $\pm$ 44.22	3996.34 $\pm$ 56.09	6901.05 $\pm$ 65.96	4896.41 $\pm$ 64.31	6948.52 $\pm$ 59.52
$\Sigma$ DCC ( $\mu\text{m}$ )	1832.55 $\pm$ 33.36	2509.16 $\pm$ 43.80	4669.63 $\pm$ 53.42	3125.31 $\pm$ 49.99	4223.20 $\pm$ 47.24
$\Sigma$ PCC ( $\mu\text{m}^2$ )	6499.00 $\pm$ 63.80	8851.33 $\pm$ 81.30	15586.41 $\pm$ 97.40	10786.96 $\pm$ 93.94	14821.25 $\pm$ 87.62
IG (%)	20.50 $\pm$ 2.21	18.90 $\pm$ 2.61	21.22 $\pm$ 2.32	21.64 $\pm$ 2.36	26.70 $\pm$ 2.01
<b>Lípidos</b>					
ITG (%)	16.20 $\pm$ 1.52	18.33 $\pm$ 1.85	18.06 $\pm$ 1.54	14.08 $\pm$ 1.56	6.25 $\pm$ 1.53
AT ( $\mu\text{m}^2$ )	17640.04 $\pm$ 101.92	25714.40 $\pm$ 137.36	28043.67 $\pm$ 121.42	8004.09 $\pm$ 55.50	19765.58 $\pm$ 114.36
$\Sigma$ ACL ( $\mu\text{m}^2$ )	6528.28 $\pm$ 63.87	9364.86 $\pm$ 84.68	11274.84 $\pm$ 78.76	2726.83 $\pm$ 31.39	4861.09 $\pm$ 56.48
$\Sigma$ DCL ( $\mu\text{m}$ )	1998.77 $\pm$ 35.25	2721.76 $\pm$ 50.20	3168.32 $\pm$ 39.56	1349.82 $\pm$ 25.04	3472.75 $\pm$ 46.75
$\Sigma$ PCL ( $\mu\text{m}^2$ )	9944.08 $\pm$ 78.09	12589.16 $\pm$ 109.65	15541.89 $\pm$ 85.86	5922.17 $\pm$ 49.92	11018.97 $\pm$ 84.39
IL (%)	37.39 $\pm$ 2.85	37.73 $\pm$ 3.17	40.19 $\pm$ 2.29	34.63 $\pm$ 2.30	26.59 $\pm$ 2.48

**H. Tabla V.** Variaciones estacionales de los principales componentes celulares de la glándula digestiva de *P. mazatlanica*. AA = área adenómero;  $\Sigma$ ACC/L = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma$ DCC/L = sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma$ PCC/L = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos; IG/IL = índice glucídico/lipídico en glándula digestiva. Se presenta la media  $\pm$  error estándar.

Carbohidratos	2005		2006		
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
AA ( $\mu\text{m}^2$ )	9597.89 $\pm$ 64.67	10892.84 $\pm$ 77.27	11156.25 $\pm$ 66.90	11494.19 $\pm$ 70.65	11990.98 $\pm$ 75.83
$\Sigma$ ACC ( $\mu\text{m}^2$ )	1644.75 $\pm$ 26.18	1972.83 $\pm$ 35.62	1725.82 $\pm$ 28.90	2062.54 $\pm$ 30.89	2476.04 $\pm$ 34.99
$\Sigma$ DCC ( $\mu\text{m}$ )	973.36 $\pm$ 19.61	1244.64 $\pm$ 24.93	1126.98 $\pm$ 21.34	1254.86 $\pm$ 23.52	1290.23 $\pm$ 25.13
$\Sigma$ PCC ( $\mu\text{m}^2$ )	3348.07 $\pm$ 36.42	4248.51 $\pm$ 47.12	3894.33 $\pm$ 41.12	4478.11 $\pm$ 44.41	4711.01 $\pm$ 47.43
IG (%)	17.92 $\pm$ 2.40	18.64 $\pm$ 2.66	16.23 $\pm$ 2.43	18.27 $\pm$ 2.22	21.35 $\pm$ 2.56
<b>Lípidos</b>					
AA ( $\mu\text{m}^2$ )	8755.22 $\pm$ 61.74	12768.11 $\pm$ 76.91	10410.75 $\pm$ 69.06	9063.54 $\pm$ 57.44	10517.44 $\pm$ 75.83
$\Sigma$ ACL ( $\mu\text{m}^2$ )	3124.19 $\pm$ 36.67	5034.34 $\pm$ 50.23	3487.79 $\pm$ 42.16	3031.36 $\pm$ 33.63	592.46 $\pm$ 25.00
$\Sigma$ DCL ( $\mu\text{m}$ )	869.60 $\pm$ 20.05	1001.99 $\pm$ 21.51	1027.45 $\pm$ 23.20	975.53 $\pm$ 20.88	664.64 $\pm$ 23.78
$\Sigma$ PCL ( $\mu\text{m}^2$ )	3958.38 $\pm$ 41.74	4980.12 $\pm$ 47.38	4640.94 $\pm$ 47.47	4596.68 $\pm$ 44.05	1676.56 $\pm$ 40.62
IL (%)	36.10 $\pm$ 2.25	39.59 $\pm$ 2.71	33.56 $\pm$ 2.78	33.87 $\pm$ 2.52	25.35 $\pm$ 2.88

**I. Tabla VI.** Variaciones estacionales de los principales componentes celulares del músculo aductor de *P. mazatlanica*.  $\Sigma ACC/L$  = sumatoria del área de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma DCC/L$  = sumatoria del diámetro medio de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $\Sigma PCC/L$  = sumatoria del perímetro de cobertura de carbohidratos/ lípidos;  $IG/IL$  = índice glucídico/lipídico en músculo aductor. Se presenta la media  $\pm$  error estándar.

Carbohidratos	2005		2006		
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
$\Sigma ACC$ ( $\mu m^2$ )	8489.06 $\pm$ 64.77	10217.22 $\pm$ 76.24	8436.16 $\pm$ 70.01	11643.59 $\pm$ 79.67	11755.28 $\pm$ 64.68
$\Sigma DCC$ ( $\mu m$ )	5127.86 $\pm$ 40.95	5391.80 $\pm$ 42.31	4824.81 $\pm$ 44.14	5974.31 $\pm$ 41.58	7087.70 $\pm$ 38.67
$\Sigma PCC$ ( $\mu m^2$ )	19008.65 $\pm$ 89.01	20986.89 $\pm$ 93.26	18654.11 $\pm$ 95.45	23435.81 $\pm$ 92.85	26819.61 $\pm$ 85.57
IG (%)	11.81 $\pm$ 2.69	9.91 $\pm$ 2.30	5.61 $\pm$ 1.93	17.50 $\pm$ 4.24	19.19 $\pm$ 2.89
<b>Lípidos</b>					
$\Sigma ACL$ ( $\mu m^2$ )	21746.99 $\pm$ 67.92	29065.71 $\pm$ 80.04	26254.69 $\pm$ 61.36	25641.27 $\pm$ 71.80	6059.93 $\pm$ 47.70
$\Sigma DCL$ ( $\mu m$ )	7269.68 $\pm$ 44.24	6360.86 $\pm$ 44.03	6559.28 $\pm$ 40.67	7569.06 $\pm$ 46.64	5339.87 $\pm$ 37.76
$\Sigma PCL$ ( $\mu m^2$ )	34527.81 $\pm$ 76.01	31104.02 $\pm$ 89.23	32894.67 $\pm$ 87.18	34324.72 $\pm$ 97.25	17041.71 $\pm$ 77.81
IL (%)	28.38 $\pm$ 2.64	29.18 $\pm$ 3.19	18.20 $\pm$ 2.41	25.39 $\pm$ 3.75	10.01 $\pm$ 2.91