



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
BAJA CALIFORNIA**
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

USO DE ESTIMULOS BIOLÓGICOS, FÍSICOS Y QUÍMICOS
PARA PROMOVER LA EXPULSION DE GAMETOS EN EL
CARACOL MARINO *Astraea undosa*



TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
OCEANOLOGO
PRESENTA

FORTUNATO ANTONIO IBARRA PREISSER

Ensenada, B.C.

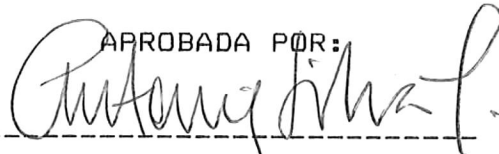
Diciembre de 1990

"USO DE ESTIMULOS BIOLÓGICOS, FÍSICOS Y QUÍMICOS PARA
PROMOVER LA EXPULSION DE GAMETOS EN EL CARACOL MARINO
Astraea undosa."

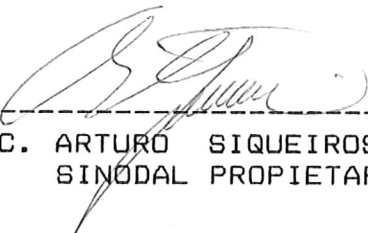
TESIS QUE PRESENTA

F. ANTONIO IBARRA PREISSER

APROBADA POR:



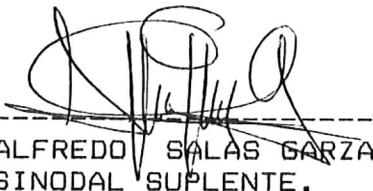
M.C. ANTONIO SILVA LOERA
PRESIDENTE



OC. ARTURO SIQUEIROS V.
SINODAL PROPIETARIO.



OC. ROBERTO A. FLORES A.
SINODAL PROPIETARIO.



OC. ALFREDO SALAS GARZA.
SINODAL SUPLENTE.



M.C. GUILLERMO TORRES M.
SINODAL SUPLENTE.

Ensenada, Baja California

Diciembre de 1990.

Este trabajo forma parte del proyecto de investigación "EVALUACION INTEGRAL DE LOS RECURSOS CON POTENCIAL ECONOMICO DE LA COSTA OESTE DE BAJA CALIFORNIA. EL CARACOL Astraea undosa (MOLLUSCA: GASTEROPODA)" en la etapa de acuacultura del caracol Astraea undosa, que se desarrolla en la Facultad de Ciencias Marinas con apoyo de la Universidad Autónoma de Baja California y la Secretaría de Educación Pública, convenio número C 87-01-0136.

RESUMEN.

Se colectaron organismos de Astraea undosa durante los veranos de 1988 y 1989. Dichos organismos fueron capturados por medio del buceo autónomo dentro de la Bahía de Todos Santos en Ensenada, B.C. Después de que se trasladaron al laboratorio, se mantuvieron a la misma temperatura a la cual fueron capturados, para posteriormente probar estímulos de tipo biológico, químico y físico para poder observar la expulsión de los gametos.

Con respecto a los estímulos de tipo biológico, el uso de macerado de óvulos no presentó respuesta alguna sobre los caracoles mas sin embargo con el uso de espermatozoides en concentraciones altas se obtuvo unicamente un 8 % de respuesta, mientras que estos mismos pero en concentraciones bajas estimularon a un 80 % de los organismos.

De los estímulos de tipo físico, el agua irradiada con luz ultravioleta presentó un 60 % de respuesta sobre los organismos. El manipuleo de la temperatura (en sus dos variaciones) presentó altos porcentajes de respuesta; es decir, se encontró que para el incremento lento bastaba subir de 17 a 22 °C para obtener un 80 % de respuesta por parte de los organismos. Con respecto al incremento súbito de la temperatura, se encontró que solo se necesita elevar la temperatura alrededor de 2 °C para obtener un 85 % de respuesta. Con respecto a la desecación, en los tiempos probados, los que mejores porcentajes de respuesta presentaron fue cuando los caracoles se sometieron a 60 y 90 min. de desecación (37 % de respuesta), notándose que conforme se aumentaba el tiempo de exposición al aire, el porcentaje de respuesta disminuía hasta llegar a 0. De las descargas eléctricas se encontró que los voltajes y tiempos utilizados (5, 10 y 20 volts y 5 y 10 seg. respectivamente) no estimularon en forma alguna a Astraea undosa.

De los estímulos de tipo químico, las sales utilizadas (K_2SO_4 , K_2NO_3 , KCl, KBr Y KI) a las concentraciones utilizadas (0.5m) no estimularon a los organismos, mas sin embargo la mitad de los caracoles utilizados en este experimento murió al segundo día de haberles aplicado el estímulo.

Con respecto a el uso del peróxido de hidrógeno de las seis concentraciones utilizadas [2, 3, 5, 10, 15 y 25 mM] solamente se obtuvo un 60 % de respuesta cuando se utilizó una concentración de [2 mM], y en las 5 restantes unicamente se observo un fuerte "stress" por parte de los organismos.

DEDICATORIA.

A MIS PADRES:

DR. FORTUNATO A. IBARRA MENDOZA.

ADOLFINA PREISSER HOLGUIN.

Por sus enseñanzas, apoyo, amor y paciencia que me han brindado a lo largo de mi formación.

A MI HERMANO.

JOSE ADOLFO IBARRA PREISSER.

Por ser un excelente hermano.

A LA MEMORIA DE MIS ABUELOS.

OTTO A. PREISSER MORAN.

OTILA HOLGUIN DE PREISSER.

Por haberme querido y tratado como si fueran mis Padres.

A MIS ABUELOS:

FORTUNATO IBARRA URUCHURTU.

JOSEFINA MENDOZA DE IBARRA.

Por haberme alentado a seguir adelante, y que gracias a Dios aún me acompañan.

AGRADECIMIENTOS.

Primeramente quiero dar las gracias a mi director de tesis M.C. ANTONIO SILVA L. porque en estos tres años de trabajo, aparte de ser un gran profesor, comportarse como un excelente sinodal, me brindo su amistad, y se comportó como un verdadero amigo. GRACIAS.

También quiero dar las gracias a los sinodales de esta tesis AL Oc. ROBERTO A. FLORES AGUILAR, Oc. ARTURO SIQUEIROS VALENCIA, M.C. GUILLERMO TORRES MOYE, Oc. ALFREDO SALAS GARZA. Por haber aceptado mi trabajo de tesis, y aportar valiosos comentarios para el mejoramiento de la misma.

Al M.C. EDUARDO SANTAMARIA DEL ANGEL por haberme brindado su amistad durante la carrera.

Al departamento de informática de la U.A.B.C. en especial al OC. GUILLERMO URBINA por su apoyo durante la elaboración de este trabajo.

Al OC. JORGE LUIS SILVA B. por ser un gran amigo y que gracias a él se llevó a cabo la impresión de este trabajo.

Al DC. PEDRO SANDOVAL GONZALEZ por haber demostrado ser un amigo incondicional en todo momento.

A los Oc. PATOS, JALILES, porque juntos pasamos grandes experiencias durante todo este tiempo.

A el DC. JOSE J. ARRIETA GUZMAN con el cual he compartido grandes momentos a lo largo de varios años de arduo estudio, y que siempre se ha comportado como un verdadero amigo tanto en las buenas como en las malas.

A el P.P. RAFAEL BAUTISTA SANTILLAN, por haberme brindado su amistad desde niño.

A la XXVIII generación de la F.C.M. en especial a mis amigos OC. SERGIO A. PRADO, P.O. LUZ MA. YANINA; P.O. FILIBERTO NUÑEZ C y P.O. MARTIN OJEDA porque durante los últimos semestres compartimos muy buenos momentos e hicimos un gran equipo de trabajo.

También quiero agradecer a PIPO Y LUCY que durante mi estancia en esta ciudad siempre trataron de ayudarme en lo que fuera necesario.

Un especial agradecimiento a la familia CABANILLAS, por sus sabios consejos en ciertas etapas de mi vida.

Tambien un especial agradecimiento para mis Tíos TIN Y EVA, por sus grandes recomendaciones y haberme sabido apoyar cuando fue necesario. A mis primos ERICKA, OTITO y SARAI.

A SONIA PREISSER DE F. porque aparte de ser una gran Tía, siempre fue como una super amiga. Y a mis primas MONICA Y BRENDA.

Y a todas aquellas personas que de momento se me escapan de la memoria, pero que de alguna forma estuvieron relacionadas en mi formación como profesionista.

CONTENIDO

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVO.....	8
MATERIALES Y METODOS.....	9
RESULTADOS.....	21
DISCUSIONES.....	29
CONCLUSIONES.....	38
RECOMENDACIONES.....	40
APENDICE.....	43
BIBLIOGRAFIA.....	44

INDICE DE FIGURAS.

FIGURA 1.- LOCALIZACION DEL AREA DE ESTUDIO.....19
FIGURA 2.- ESQUEMA DEL CARACOL Astraea undosa.....12

INDICE DE TABLAS

TABLA I.- APLICACION DE ESTIMULOS BIOLÓGICOS PARA INDUCIR A LA EXPULSION
DE GAMETOS EN EL CARACOL MARINO Astraea undosa.....23
TABLA II.- APLICACION DE ESTIMULOS FÍSICOS PARA INDUCIR A LA EXPULSION DE
GAMETOS EN EL CARACOL MARINO Astraea undosa.....25
TABLA III.- APLICACION DE ESTIMULOS QUÍMICOS PARA INDUCIR A LA EXPULSION DE
GAMETOS EN EL CARACOL MARINO Astraea undosa.....27

INTRODUCCION.

La inducción artificial al desove es generalmente el primer paso a seguir cuando se intenta el cultivo de una nueva especie (Hahn, 1989). Tener el conocimiento tanto del desove como de la producción de larvas de una especie, es esencial para la práctica de la acuicultura y manejo en pesquerías. La ventaja de la inducción artificial al desove es que permite la producción de larvas durante un período más largo que el que ocurre en el medio natural bajo condiciones normales, además de que permite la programación en la siembra de organismos.

Los desoves espontáneos en el medio natural, no están del todo comprendidos, pero sí se sabe que intervienen en su control factores endógenos y exógenos. El desove puede ser causado por un cambio repentino en la temperatura del agua ambiental (ya sea aumento o decremento), exposición al aire debido a una baja marea, fotoperíodos, ciclos lunares, liberación de gametos de otros individuos dentro de la misma población, o bien la combinación de dos o más factores (Booolotian et al., 1962 ; Young et al. ., 1970 cit. por Hahn, 1989)

El caracol marino Astraea undosa conocido comunmente como caracol panocha pertenece a la clase Gasteropoda, familia Astraeniae, y habita desde la zona de entremareas

hasta una profundidad de 80 m (Schwalm, 1973).

Dicho organismo en las décadas de 1960 y 1970 se capturaba únicamente para utilizarlo como carnada en las trampas de langosta, y a pesar de que hoy en día está prohibido por el departamento de pesca regional (Carro H. com. personal), sigue siendo utilizado como carnada en las trampas langosteras (Ramade Mario, com. per.) pues funciona mejor que el pescado. Durante la última década se le ha dado mayor importancia a su captura, además se ha empezado a utilizar para consumo humano (Belmar, 1988).

Debido a la importancia que se ha dado a la captura de este organismo, es necesario realizar estudios encaminados a la obtención de semilla de A. undosa, y ésta se podría utilizar para repoblar zonas o bien para cultivarlo. De esta manera, se podrá evitar lo que ocurrió con el abulón en que se llega a un punto, que por no modificarse su nivel de captura, se ocasiona un colapso en la pesquería (Guzmán del Proo et al., 1980. cit. por Chavez M. 1988).

Para la inducción al desove en moluscos, se han utilizado varios métodos.

(*) Lic. Hector Carro Peralta. Delegado de Pesca Regional, Secretaría de Pesca. Ensenada B.C.

(*) Oc. Mario Ramade V. Asesor técnico cooperativa Punta Abreojos. Punta Abreojos B.C. Sur

Dentro de los estímulos de tipo biológico Murayama, (1935) cit. por (Ino T. 1970) menciona que algunos ejemplares de Haliotis gigantea pueden ser inducidos a la expulsión de los gametos mediante la adición de espermas a el agua en la que se encuentran los organismos, y de acuerdo a sus observaciones el macho responderá más rápido que la hembra.

Galtsoff (1961), encontró que muchos bivalvos pueden ser inducidos a la expulsión de gametos, agregando a el medio que los rodea gametos del sexo opuesto, y bastará solo esperar entre 1 y 2 h para que se logre estimular a los organismos (tanto hembras como machos).

Posteriormente Loosanoff y Davis (1963) cit. por Ino T. (1970) comenta que por lo menos en Meretrix mercenaria es necesario para inducir a la expulsión de los gametos el agregar espermas u óvulos en suspensión al medio. Y que inclusive en algunas ocasiones será necesario como complemento tambien para otros estímulos.

Con respecto a los estímulos de tipo físico las descargas eléctricas fueron probadas por primera vez por Iwata (1949) en Mytilus edulis, les aplicó un estímulo de 20 v durante 5 seg en el agua circundante a los organismos, y una hora despues de aplicado empezó a observar resultados satisfactorios tanto de hembras como de machos, para

posteriormente lograr las respectivas fertilizaciones.

Posteriormente Kanno y Kikuchi (1962) mencionan la posibilidad de inducir a la expulsión de gametos a Haliotis discus hannai mediante descargas eléctricas, sin haberlo probado aún.

La desecación también ha sido probada como un inductor a la expulsión de los gametos. Carlisle (1962) expuso a desecación a Haliotis rufescens durante 1.15 h. y después de 6 u 8 h de haber sido regresado a sus estanques, se empezaron a observar resultados. Este método no fue del todo efectivo, ya que solo dió resultados en 2/3 partes de los experimentos.

Otro factor, también de suma importancia, es la variación de temperatura del agua circundante al organismo.

El hecho de modificar la temperatura, ya sea de una manera suave ó bien un cambio repentino en la temperatura del medio que rodea a los organismos esta probado como el más efectivo en lo que respecta a ciclos reproductores en invertebrados marinos (Giese, 1959; Uki et al., 1984). Yool et al., (1986) utilizaron cambio repentino de temperatura para inducir a la expulsión de gametos de Astraea undosa siendo unicamente necesario elevar 4 a 5 °C la temperatura para obtener los gametos reproductivos tanto de hembras como de machos.

Con respecto a el uso de agua fuertemente irradiada con luz ultravioleta, Uki N. et al (1974) utilizaron el método con algunos ejemplares de Patinopecten yessoensis con una intensidad de irradiación de 600 milliwatt/h logrando los estímulos deseados, encontrando que conforme se aumentaba la irradiación disminuía el tiempo requerido para lograr la estimulación. Unos años despues (1982) el mismo investigador irradió el agua que le suministraba a ejemplares de Haliotis discus pudiendo observar las correspondientes expulsiones de los gametos entre 4 y 5 h después de aplicado el estímulo en machos en un 61, % y en las hembras en un 38 %. Poco después Ebert et al (1984) comenta que Haliotis sp. solamente requiere de 3 a 4 h de exposición al uv para disparar un mecanismo de respuesta. Grant (1984) utilizó uv a una intensidad de 800 milliwatt/h, pero antes les daba una desecación de aproximadamente 1 h a 18 °C, después los regresaba a sus tanques y les elevaba la temperatura a una razón de 3 °C/h hasta llegar a los 20 °C. Las expulsiones generalmente ocurrían entre las 2 a 4 h siguientes. El tiempo entre el inicio del estímulo y la expulsión de gametos es proporcional a la intensidad de la irradiación (Hahn, 1990).

Dentro de los estímulos de tipo químico el uso de

inyecciones de sales de potasio, también ha dado buenos resultados. Iwata (1947) inyectó dichas sales en ejemplares de Venerupis phillippinarum y Meretrix lusoria (bivalvos), encontrando que las respuestas empiezan a aparecer de 1 a 5 h después de aplicado el tratamiento. Posteriormente Iwata (1948) insertó un tubo de vidrio (de 6 a 8 mm de diámetro) entre las valvas de Tapes japonica e inyectó 2 cc. de una solución neutra de sales de potasio (KCl, KNO₃, KBr, K₂SO₄) dentro de la cavidad visceral, obteniendo resultados satisfactorios en un 67 %. Unos años después Carlisle (1962), probó con algunos ejemplares de Haliotis rufescens, a los cuales inyectó con 2 a 2.5 cc de KCl pero desafortunadamente obtuvo resultados negativos, teniendo que recurrir finalmente a la desecación.

El uso de peróxido de hidrógeno también puede resultar ser un buen estimulador, ya que es más barato y común disponible. Además de que los reactivos pueden ser fácilmente adquiridos y pueden ser guardados por bastante tiempo (hasta un año para el peróxido y años para TRIS sin sufrir deterioro alguno) Hahn (1990). Morse et al., (1977) utilizaron una concentración de 5 mM en agua de mar, y encontraron que aproximadamente 3.5 h después de estimulados los organismos (Haliotis rufescens) empezaban a expulsar los gametos tanto hembras como machos.

Después Morse (1978) dice que el hecho de agregar peróxido de hidrógeno al agua de mar, es un método muy simple, barato y efectivo para inducir a la expulsión de los gametos a bivalvos y gasteropodos.

Debido a la escases de material bibliográfico sobre inducción al desove de Astraea undosa, se establece como prioridad conocer y describir su biología y poder llegar a conocer una metodología que permita obtener gametos en condiciones de laboratorio. Lo cual, en su momento, tendrá repercusiones benéficas en actividades acuiculturales o de repoblamiento de zonas pesqueras, lo anterior debido a la importancia económica que pueda representar este molusco.

OBJETIVO.

Promover la expulsión de gametos en el caracol marino Astraea undosa (Wood, 1828), mediante estimulaciones físicas, químicas y biológicas. Así como establecer cuales son más efectivas.

MATERIALES Y METODOS.

Los organismos se colectaron en Punta Banda (1988) y frente a la Isla de Todos Santos (1989). Ambos sitios se localizan dentro de la Bahía de Todos Santos ubicada entre los 31° 43' y 31° 54' de latitud Norte y entre los 116° 36' y 116° 49' de longitud oeste (Secretaría de Marina, 1974) (Fig. 1).

Punta Banda se caracteriza por ser una costa rocosa semi-expuesta.

Las Islas cubren un total de 3.5 km² de superficie, y en medio se encuentra un canal que las divide en dos. En esta parte, pero por el lado protegido fue donde se realizaron las colectas por medio del buceo autónomo. En ambos sitios la profundidad a la cual se hicieron las colectas fue desde 5 hasta 15 m de profundidad.

Únicamente se colectaron organismos que fueran mayores a los 70 milímetros de longitud, y como máximo no se fijó ningún límite.

Las colectas se realizaron durante los meses de Junio, Julio y Agosto de 1988 y Marzo, Abril, Junio, Julio y Agosto de 1989. Esto en base a estudios previos donde se determinó que la época de desove en el medio natural, ocurre entre los meses de Agosto y Septiembre.

Los organismos fueron trasladados al laboratorio de

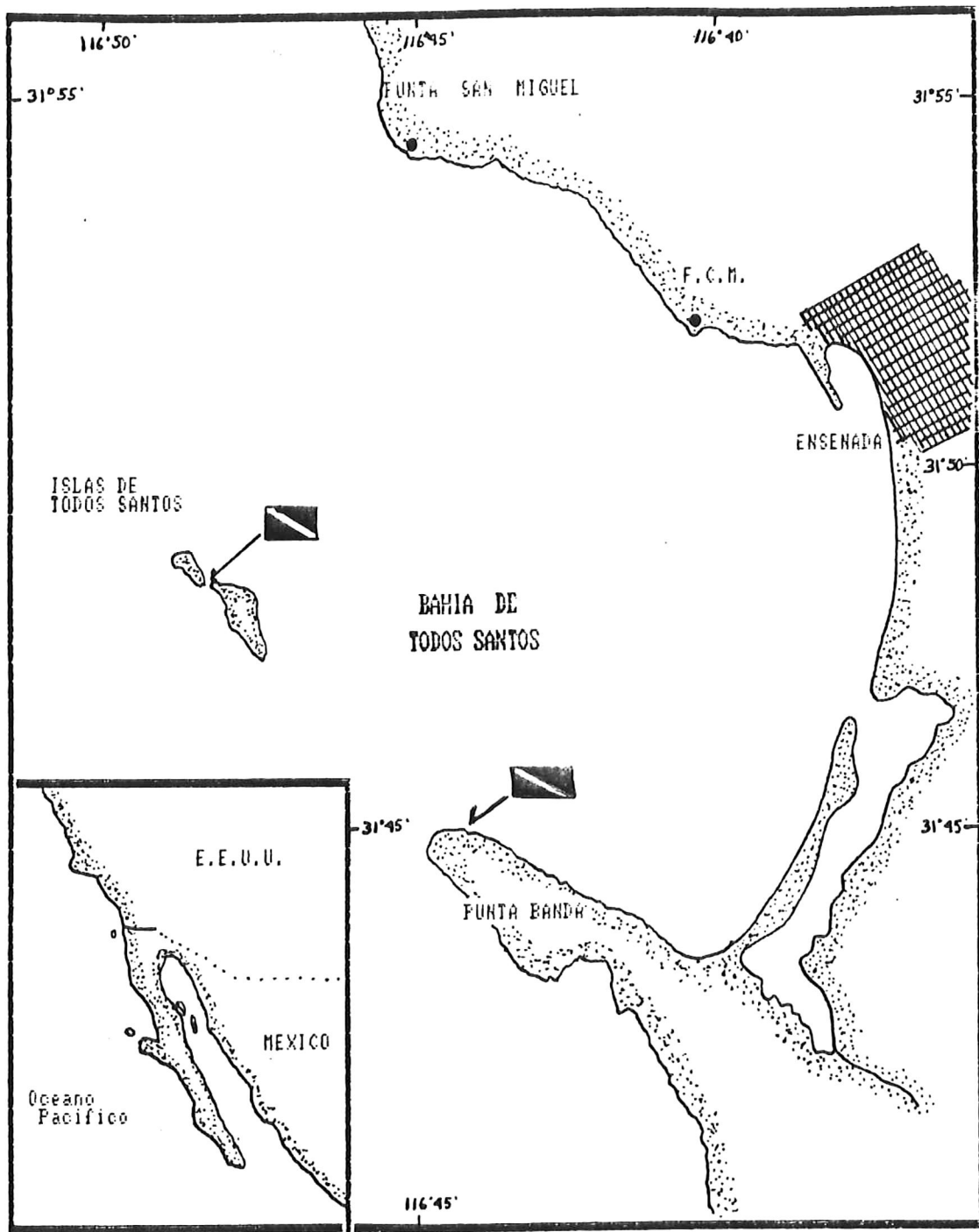



Figura 1.- localizacion del area de colecta de los organismos 

acuicultura de la Facultad de Ciencias Marinas en cajas térmicas (hieleras), a cada una de las hieleras se le colocaban en su interior dos botellas de hielo, esto para ayudar a que la temperatura del agua bajara, y de esta manera los caracoles se mantuvieron en una temperatura similar a la cual fueron colectados.

El tiempo requerido para transportarlos al laboratorio era de aproximadamente 2 h. Una vez en el laboratorio, se colocaron en estanques con una capacidad de 500 l con aireación, flujo abierto de agua de aproximadamente 3 l/min previamente filtrada a través de un filtro rápido de arena, alimento suficiente (Macrocystis pyrifera y Egretta menziessi) y temperatura aproximada de 17 °C \pm 1.5 °C. Así se dejaron durante 2 semanas para que se acondicionaran al nuevo ambiente.

En algunos caracoles colectados en Marzo de 1988 se procedió a determinar el sexo, perforando la concha con una broca de dos milímetros de diámetro. Dicho orificio se practicó sobre una de las paredes de la concha a la altura de la gonada (ver figura 2), para de esta manera poder diferenciar el color de la gónada; y establecer el sexo del caracol, ya que esta es la única manera de hacerlo.

Una vez sexados los organismos se colocaron por separado en estanques y se mantuvieron en las mismas

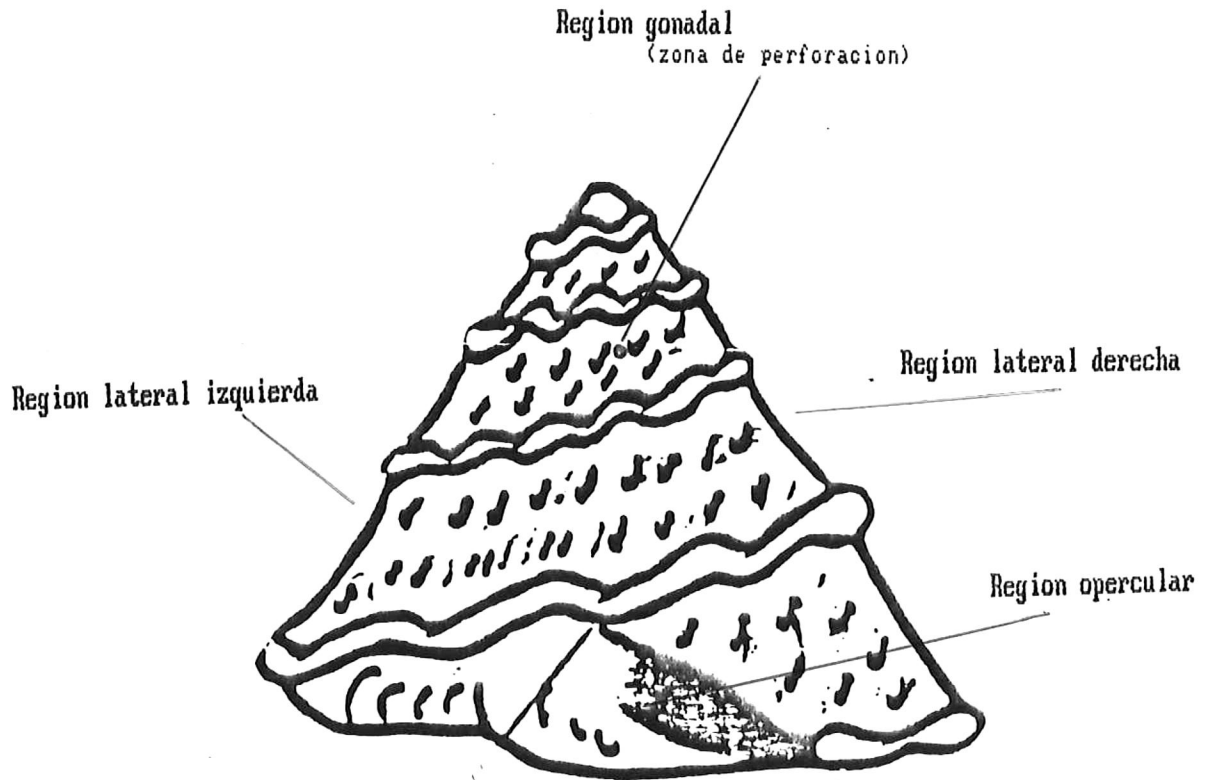


figura 2.- Vista frontal de *Astraea undosa*

condiciones de laboratorio descritas anteriormente por un lapso de aproximadamente seis semanas para que se recuperaran del tratamiento aplicado y repararan la parte de la concha dañada.

Estos organismos se utilizaron en un experimento en el que se elevó la temperatura de 17 a 18°C. Se procuraba adelantar el proceso de maduración mediante aumento de temperatura (Uki, 1984). Dado que estuvieron sometidos a un "stress" debido a fallas en el suministro de agua de mar y aire, se alteró el proceso de maduración y respuesta en la inducción al desove.

Los estímulos a probar para provocar la expulsión de gametos fueron biológicos, físicos y químicos.

A) Métodos biológicos.

Uso de gametos.- Para este experimento se utilizaron 75 organismos, y se colocaron en acuarios por separado, cada acuario contenía a 25 organismos. Según estudios realizados por Ramade (1989) los organismos se encuentran en el medio natural en una proporción de sexos de 1:1.2, por lo tanto se asumió que al colocar los organismos en los acuarios, se encontraban en la misma proporción. Se mantuvieron en un medio con la misma temperatura de la que fueron tomados. A uno de los acuarios se le añadieron gonadas femeninas, las cuales primeramente hubo de extraer

de los organismos mediante el sacrificio, para luego romper su envoltura y mezclar los óvulos con el agua de mar dentro de un vaso de precipitados de 250 ml. A los otros dos restantes se les añadieron gonadas masculinas maceradas de la misma manera que las femeninas. Para este caso se manejaron dos concentraciones diferentes de gametos (de 6 a 8×10^5 espermatozoides/ml) y (de 3 a 6×10^5 espermatozoides/ml).

En esta solución se mantuvieron durante dos horas para lograr el estímulo de los organismos. Transcurrido el tiempo establecido se sacaron, enjuagaron y se regresaron a su estanque original, para mantenerlos en constante observación por las siguientes 24 h.

B) Estímulos físicos.

Descargas eléctricas. - Con este estímulo se manejaron tres voltajes diferentes: 5, 10 y 20 volts y duración de 10 y 20 segundos. Cada uno de los voltajes se combinó por separado con cada uno de los tiempos.

Para cada una de las pruebas se utilizaron 3 caracoles. Para este caso se fueron pasando uno por uno los caracoles por un vaso de precipitados de 500 ml, el cual contenía agua de mar que provenía de el estanque original.

Posteriormente se colocaron los electrodos sobre el medio que rodeaba al organismo, y se aplicó el voltaje y

tiempo deseado para lograr el estímulo en el organismo.

Una vez aplicado el estímulo se fueron pasando los organismos a estanques que tenían separaciones para lograr diferenciarlos entre un tratamiento y otro y al igual que en los demás se mantuvieron en constante observación por 24 horas. La segunda parte del experimento consistió en aplicar exactamente los mismos voltajes y los mismos tiempos, solo que esta ocasión los organismos se sacaban del medio en el cual se encontraban y se les aplicaba las descargas directamente sobre el pie, y hasta entonces eran regresados al estanque con separaciones.

Agua irradiada con luz ultravioleta.- Para este estímulo se utilizaron 25 caracoles los cuales se colocaron en un estanque donde el flujo de agua había sido filtrado hasta 1 micra, primero mediante un filtro rápido de arena y enseguida por filtros de cartucho, seguido a estos filtros, se encontraba colocada la lámpara de luz ultravioleta, a través de la cual pasaba el agua que finalmente daba hacia los estanques donde se encontraban los caracoles. Así se mantuvieron durante 100 min, y transcurrido este tiempo se trasladaron a los estanques de observación para mantenerlos ahí durante las 24 h siguientes.

Incremento de temperatura.- Este efecto se aplicó de dos maneras; la primera consistió en un cambio gradual de

la temperatura del medio circundante al organismo, y la segunda consistió en un cambio repentino de la temperatura. Con el aumento gradual de la temperatura se utilizaron un total de 25 organismos. Partiendo de los 17 °C (que era la temperatura a la cual se mantuvieron en el laboratorio dado que era en la que se encontraban en el medio natural al momento de ser capturados) se comenzó a elevar la temperatura 1 grado por cada 30 minutos, así sucesivamente hasta llegar a los 21 °C.

Una vez alcanzada la temperatura, hubo de esperar de dos y media, a tres y media horas para que en los organismos se lograra la estimulación.

Para la segunda parte del experimento, se tomaron un total de 20 organismos, los cuales se encontraban originalmente a 21 °C, de aquí se pasaron directamente a un medio que se encontraba 3.5°C. más arriba del inicial y solamente hubo necesidad de esperar de 30 a 60 minutos para obtener respuestas por parte de los organismos.

Transcurrido el tiempo antes mencionado, los organismos fueron regresados a sus estanques originales y se mantuvieron en constante observación por las 24 h siguientes.

Desecación.- En este caso se tomaron un total de 96 organismos. De los cuales primeramente se tomó un grupo de

56 caracoles y éstos a su vez se dividieron en grupos de ocho. El primer grupo se mantuvo fuera del agua por 12 h, el segundo grupo se mantuvo durante 10 h, el siguiente por ocho h, y así sucesivamente hasta llegar a cero h de desecación, siendo estos últimos los organismos de control.

En el resto de los caracoles (40), el tratamiento de desecación en lugar de ser de horas de diferencia, solo era de minutos de diferencia; es decir se formaron nuevamente grupos de 8 organismos, y se mantuvieron fuera del agua, el primer grupo por 120 min, el segundo grupo por 90 min, el siguiente por 60 min y así hasta llegar a cero minutos que nuevamente fueron los animales de control. Se tuvo mucho cuidado de que los caracoles durante el tiempo de desecación se mantuvieran húmedos a la sombra y con una temperatura ambiente de $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Posteriormente se trasladaron a recipientes donde estuvieron separados de acuerdo al tratamiento de desecación recibido, y donde existió una temperatura aproximada de 17°C . A partir de aquí se mantuvieron en constante observación durante las siguientes 24 h.

Es importante establecer que para algunos de los estímulos que se probaron se utilizó un blanco o testigo, es decir un número igual de organismos al cual no se le aplicó efecto alguno. Además de que ningún organismo fue

sujeto a más de un tratamiento durante el presente experimento.

C) Estímulos químicos.

Inyección de sales de Potasio.- En este experimento se trabajó con cinco sales diferentes, y se utilizaron un total de 30 organismos.

Las sales utilizadas fueron: K_2SO_4 , KCl , KBr , KI y K_2NO_3 . Cada una de estas sales estuvieron a una concentración de 0.5 molar, y se aplicaron de la forma siguiente: primeramente se colocó el caracol fuera del agua con el opérculo hacia abajo, para lograr que saliera toda el agua que pueda contener dentro de su cavidad; para posteriormente con una jeringa hipodérmica, inyectar entre el manto y el pie la sal (1 cc.).

Para cada una de las sales se utilizaron 3 caracoles. Después se procedió a repetir todo lo antes mencionado, con nuevos organismos (3 por cada sal) solo que esta vez se colocó al organismo con el opérculo hacia arriba, y se llenó el interior de la concha con la solución. Esta aplicación duró entre 5 y 10 minutos. Una vez que se inyectaron todos los caracoles y se trataron con el baño salino se colocaron nuevamente en sus recipientes originales y se mantuvieron en constante observación, durante las cuatro horas siguientes.

Peróxido de hidrógeno.- Para este estímulo se utilizaron seis concentraciones diferentes de peróxido de hidrógeno. Las cuales fueron de 2, 3, 5, 10, 15 y 25 milimoles. Cada una de las diferentes concentraciones se manejó por separado, y en cada una se colocaron tres organismos. Una vez preparado todo lo anterior, a cada uno de los recipientes se le agregó 1 ml/l de TRIS (hidroximetil-amino-metano) a una concentración de 2 M preparado de una solución al 6 % (Peña, 1986). Dicha solución sirve únicamente para aumentar el pH del agua de mar (Hahn, 1990).

Los organismos se colocaron en esta solución durante un período de dos y media horas para lograr su estimulación. Durante este período se vigiló que el valor del pH se mantuviera entre 8.2 a 9.23 únicamente, y la temperatura entre los 19 y 20 °C. En algunos casos transcurrió el tiempo establecido y no hubo ninguna respuesta por parte del organismo, se retiraron del medio, se enjuagaron y se colocaron en otro recipiente con agua de mar nueva, pero se les mantuvo en constante observación durante las 24 horas siguientes.

Es sumamente importante que una vez transcurrido el tiempo establecido se cambie por completo el agua de mar (isotermal) y enjuagar el tanque contenedor antes de que

los desoves empiezen, ya que la presencia de estas soluciones químicas puede causar la no viabilidad de los gametos obtenidos. Todo lo anterior se debe realizar procurando no molestar a los animales (Morse, 1978).

Cabe mencionar que los pasos a seguir en el uso de agua irradiada con luz ultravioleta y peróxido de hidrógeno, se basaron en experiencias obtenidas en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas, el cual presto sus instalaciones para los primeros ensayos.

RESULTADOS.

Los resultados se muestran en tres tablas diferentes, en la tabla I se presentan los estímulos de tipo biológico, en la tabla II los de tipo físico, y por último en la tabla III los estímulos químicos.

Respecto a la tabla I, el uso de gametos provenientes de hembras sacrificadas no provocó la expulsión de los gametos en los organismos utilizados (hembras y machos).

Mas sin embargo el uso de gametos masculinos (espermatozoides) si dio resultados. En las concentraciones altas (6 a 8×10^{10} espermatozoides/ml) el porcentaje de organismos estimulados fue de tan solo el 8 %, mas sin embargo en las concentraciones bajas (3 a 6×10^8 espermatozoides/ml), el porcentaje aumento al 80 %.

Con respecto a la tabla II (estímulos físicos) en la aplicación de descargas eléctricas, se observó bastante sensibilidad por parte de los organismos hacia el estímulo aplicado. Dicha sensibilidad se presentó como "stress", más no como un estímulo a la expulsión de los gametos, ya que en ninguno de los organismos se observó ningún estímulo, salvo en uno de los organismos de control, pero dicha respuesta debió deberse mas que nada al cambio de temperatura del agua (ver tabla II). Lo único observado en los organismos que recibieron las descargas, fueron

contracciones rápidas del pie en el momento de las descargas. También se encontró que conforme aumentaba el voltaje y el tiempo de aplicación aumentaba también el tiempo de recuperación por parte de los organismos.

El uso de agua radiada con luz ultravioleta, fue de los mas sencillos, en el cual los resultados fueron bastantes satisfactorios, tomando en cuenta la simplicidad del experimento. A pesar de que se tuvo un incremento de la temperatura de 0.5°C se considera que los organismos fueron estimulados basicamente por el uso de luz uv. Obteniendo porcentaje de respuesta del 60 %.

Cuando se trato de inducir al estímulo mediante el manejo de la temperatura, es cuando estos presentaron mejores resultados, tanto en el incremento lento, como en el súbito. Aunque hubo porcentajes de respuesta más altos en el incremento súbito o shock térmico. Al parecer solo es necesario un incremento repentino de la temperatura de 2°C para provocar en un 85 % de los organismos utilizados un mecanismo de respuesta (expulsión de gametos). En las dos formas diferentes de aplicar la temperatura se observó que el "stress" provocado en los organismos fue mínimo, ya que inmediatamente se recuperaron, además de que solo se requiere esperar de 30-60 minutos para la expulsión de los gametos (ver tabla II).

TABLA I. APLICACION DE ESTIMULOS BIOLOGICOS PARA INDUCIR A LA EXPULSION DE GAMETOS EN EL CARACOL MARINO Astraea undosa.

ESTIMULO	DURACION DEL ESTIMULO	TEMPERATURA		TIEMPO DE OBSERVACION ⁽¹⁾	N	RESPUESTA	% DE RESPUESTA	SEXO M:H
		INICIAL	FINAL					
MACERADO DE OVULOS	120 min	20.5 °C	20.5 °C	120 min	25	-	0	- -
ESPERMATOZOIDES [8 a 6x10 ⁵ /ml]	120 min	20.5 °C	20.5 °C	120 min	25	+	8	- -
ESPERMATOZOIDES [3 a 6x10 ⁵ /ml]	120 min	20.5 °C	20.5 °C	30-60 min	25	+	80	3:2

⁽¹⁾ tiempo transcurrido despues de aplicado el estimulo, durante el cual se espero que sucediera la expulsion de los gametos.

En la desecación también se utilizaron períodos largos, y en otro experimento se utilizaron períodos cortos. Con la desecación (períodos largos), se obtuvo la expulsión de los gametos de un 25 % de los organismos de control; es decir 0 horas de desecación. Y un 25 % de organismos estimulados en los que llevaron 6 horas de desecación. Para la segunda parte del experimento (períodos cortos), donde la diferencia en tiempos de desecación solo era de minutos se obtuvieron resultados más constantes; es decir se obtuvo un 25 % de respuesta en los organismos que duraron 30 m fuera del agua, 37 % de respuesta en los que duraron 60 minutos fuera del agua, 37 % en los que permanecieron 90 minutos fuera del agua, y 25 % en los que permanecieron 120 minutos fuera del agua. Con este estímulo también se encontró que el "stress" provocado a consecuencia del estímulo aplicado es mínimo, ya que rápidamente se recuperaron de dicho "stress".

Respecto a la tabla III (estímulos químicos) se utilizaron sales de potasio y peróxido de hidrógeno. Con las sales utilizadas tanto inyectadas como disueltas no se logró obtener la expulsión de los gametos. Sin embargo sí se observó un gran "stress" sobre los organismos, llegando a tal grado que al siguiente día murieron todos los que fueron inyectados en el manto-pie. Como resultado de las

TABLA II. APLICACION DE ESTIMULOS FISICOS PARA INDUCIR A LA EXPULSION DE GAMETOS
EN EL CARACOL MARINO *Astraea undosa*.

ESTIMULO	DURACION DEL ESTIMULO		TEMPERATURA		TIEMPO DE OBSERVACION ⁽¹⁾	N	RESPUESTA	% DE RESPUESTA	SEXO M:H
			INICIAL	FINAL					
DESCARGAS ELECTRICAS (MANTO-PIE)	5 volt	5 seg	17.0°C	18.5°C	120 min	3	-	0	--
	5	10	17.0	18.5	120	3	-	0	--
	10	5	17.0	18.5	120	3	-	0	--
	10	10	17.0	18.5	120	3	-	0	--
	20	5	17.0	18.5	120	3	-	0	--
	20	10	17.0	18.5	120	3	-	0	--
	0	--	17.0	18.5	75	3	+	33	1:0
DESCARGAS ELECTRICAS (MANTO-PIE)	5 volt	5 seg	17.0°C	22.0°C	120 min	3	-	0	--
	5	10	17.0	22.0	120	3	-	0	--
	10	5	17.0	22.0	120	3	-	0	--
	10	10	17.0	22.0	120	3	-	0	--
	20	5	17.0	22.0	120	3	-	0	--
	20	10	17.0	22.0	120	3	-	0	--
	0	--	17.0	22.0	120	3	-	0	--
DESCARGAS ELECTRICAS (CAMPO ELECTRICO)	5 volt	5 seg	18.0°C	22.0°C	120 min	3	-	0	--
	5	10	18.0	22.0	120	3	-	0	--
	0	5	18.0	22.0	120	3	-	0	--
	10	10	18.0	22.0	120	3	-	0	--
	20	5	18.0	22.0	120	3	-	0	--
	20	10	18.0	22.0	120	3	-	0	--
	0	--	18.0	22.0	120	3	-	0	--
AGUA RADIADA CON UV.	100 min		20.5	21.0	60-90	25	+	60	4:2
TEMPERATURA INCREMENTO LENTO	1 °C/5min		17.0	22.5	50-90	25	+	80	3:2
TEMPERATURA INCREMENTO SUBITO			20.5	23.5	30-50	20	+	80	4:3
			21.0	22.5	40-80	20	+	75	4:2
			21.0	23.0	30-60	20	+	85	3:2
DESECACION	0 hrs		17.5	22.5	55-85	8	+	25	1:1
	2		17.5	22.5	120	8	-	0	--
	4		17.5	22.5	120	8	-	0	--
	6		17.5	22.5	60-80	8	+	25	2:0
	8		17.5	22.5	120	8	-	0	--
	10		17.5	22.5	120	8	-	0	--
	12		17.5	22.5	120	8	-	0	--
	0 min		18.0	20.0	120	8	-	0	--
	30		18.0	20.0	60-80	8	+	25	2:0
	60		18.0	20.0	55-70	8	+	37	2:1
	90		18.0	20.0	50-80	8	+	37	2:1
120		18.0	20.0	60-85	8	+	25	2:0	

(1) tiempo tscurrido despues de aplicado el estimulo, durante el cual se espero que sucediera la expulsion de gametos.

sales se puede decir que estas, por lo menos en *Astraea undosa*, funcionan como sustancias que en un momento dado pueden llegar a frenar la expulsión de los gametos, ya que junto con el uso de sales también se aplicaron 2°C de incremento en la temperatura, y dicho incremento no repercutió en lo más mínimo en los organismos en la expulsión de gametos.

Con relación al uso del peróxido de hidrógeno; de las 6 concentraciones probadas, ninguna dió resultados positivos sobre los organismos, salvo en donde una de las concentraciones probadas fue 2mM y de 5 caracoles intentados a estimular, se logró observar el estímulo en el 60 % de los organismos; pero aquí entraron en juego varios factores; tales como la desecación previa de dos horas, y un ligero incremento de la temperatura. Con respecto a las concentraciones más altas [25 mM] se notó un rechazo por parte de los organismos hacia el medio estimulador, ya que los caracoles trataron de salir del recipiente contenedor y otros se retrajeron fuertemente en la concha permaneciendo todo el tiempo en esta posición.

Siempre se observaron gonadas maduras en los organismos sacrificados. En el caso de los machos los espermatozoides tenían actividad flagelar y los óvulos estaban bien formados y mostraban la apariencia en

TABLA III. APLICACION DE ESTIMULOS QUIMICOS PARA INDUCIR A LA EXPULSION DE GAMETOS EN EL CARACOL MARINO Astraea undosa.

ESTIMULO	DURACION DEL ESTIMULO		TEMPERATURA		TIEMPO DE OBSERVACION ⁽¹⁾	N	RESPUESTA	% DE RESPUESTA	SEXO N:H
			INICIAL	FINAL					
SALES DE "K" INYECTADO EN MANTO-PIE	K ₂ SO ₄	5cc [1.5ml]	19.0°C	21.0°C	120 min	3	-	0	--
	K ₂ NO ₃	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
	KCl	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
	KBr	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
	KI	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
SALES DE "K" SOBRE EL MANTO-PIE	K ₂ SO ₄	5cc [1.5ml]	19.0°C	21.0°C	120 min	3	-	0	--
	K ₂ NO ₃	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
	KCl	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
	KBr	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
	KI	5cc	19.0	21.0	120	3	-	0	--
PEROXIDO DE HIDROGENO		2 mM ⁽²⁾	20.0°C	20.0°C	120 min	3	+	60	2:1
		3 mM	17.5	23.0	120	3	-	0	--
		5 mM	17.5	23.0	120	3	-	0	--
		10mM	17.5	23.0	120	3	-	0	--
		15mM	17.5	23.0	120	3	-	0	--
	25mM	17.5	23.0	120	3	-	0	--	

(1) Tiempo transcurrido despues de aplicado el estimulo, durante el cual se espero que sucediera la expulsion de los gametos.

(2) Organismos que sufrieron desecacion previa de dos horas.

empaquetamiento como racimo de uva.

DISCUSIONES.

Con el uso de gametos femeninos (macerado de gonada) no se observó respuesta favorable (Tabla I). Esto podría explicarse al considerar que el espermatozoide tiene una capacidad de fertilización mucho mayor que el al óvulo (Chulini, 1990). Lo cual puede ser una estrategia reproductiva natural. Pues debido a que los óvulos, poseen un período de vida corto, no tendrían oportunidad de estimular al macho. Además, el óvulo al ser expulsado carece de movilidad y se precipita, en tanto que el espermatozoide tiene gran movilidad y debido a las corrientes puede alcanzar otros organismos y llegar a inducir a la expulsión de gametos y así fertilizar los óvulos.

Carlisle (1962) menciona: que "perturbar" hembras de abulones con esperma es un método fácil de inducir la expulsión de óvulos, sin embargo cuando utiliza gametos femeninos en machos estos no eyaculan, tal y como sucedió en el presente trabajo (ver tabla I).

Respecto a el uso de gametos masculinos (macerado de gónada) estos resultados mostraron que es es un inductor favorable que induce tanto a machos como a hembras (en ese orden). Esto mismo ha sido utilizado en otros moluscos (Murayama, 1935 cit. por Hahn 1989). En este caso la

quimiorrecepción parece ser el mecanismo primario que induce la expulsión de los gametos, puesto que los gasterópodos presentan una alta sensibilidad ante algunas sustancias orgánicas (aminoácidos, amoníaco, péptidos) Kohn (1961). Cabe la posibilidad de conocer las sustancias presentes en el fluido seminal que promueven la expulsión de gametos y ser probadas en forma aislada, lo cual sería un poderoso inductor de origen natural.

Los resultados presentados en la tabla II, primeramente se muestran los efectos del estímulo de las descargas eléctricas, las cuales han sido utilizadas como inductor para la expulsión de gametos. Iwata (1949) logró obtener gametos en Mytilus edulis con descargas de 20 volts y duración de 5 seg. Posteriormente Kanno y Kikuchi, (1962) mencionan la posibilidad de inducir al desove a Haliotis discus hannai mediante descargas eléctricas. Con A. undosa las descargas eléctricas a una intensidad de 5, 10 y 20 v con duración de 5 y 10 seg no son un estímulo que induzca a la expulsión de gametos, más bien produce un fuerte "stress". Aunque existe la posibilidad de probar voltajes menores a los utilizados. En segundo término, en la misma tabla II, se observó que el uso de agua irradiada por luz ultra-violeta es un inductor a la expulsión de gametos en Astraea undosa. Esta manera de provocar desóves y

eyaculaciones, ha sido muy utilizada en abulones (Uki et al., 1974; Kikuchi, 1974; Seki, 1979; Uki, 1982; Ebert et al., 1984; Grant, 1984).

Algunos investigadores han tratado de "medir" el uso de agua fuertemente irradiada por luz ultravioleta, basándose en el flujo por unidad de tiempo por la lámpara y longitud de onda de ésta, sin embargo se podría pensar en "medir" el efecto de la luz ultravioleta en el agua, que es producción de peróxido de hidrógeno (Morse, 1977; Uki, 1984), y cuantificar la cantidad presente, lo cuál lo convierte en un método muy semejante al sugerido por Morse et al, (1977; 1978).

A pesar de que este método presenta muchas ventajas, por ejemplo, que es totalmente seguro para los gametos, que es un método muy fácil de utilizar, y que inclusive pueden programarse relojes electrónicos para que enciendan las lámparas antes de que el día normal de trabajo comienza, también se debe considerar el tamaño del laboratorio, ya que si este es demasiado pequeño, el costo inicial del equipo se incrementará bastante, y se deberá pensar en algún otro método más accesible (Hahn, 1990).

Del análisis de los resultados cabe considerar que la temperatura de 20 °C, debió haber influido en los desóves y eyaculaciones y el efecto de la luz ultravioleta se

combinó con el de la temperatura elevada.

El efecto de la variación de la temperatura en poiquilotermos es muy marcado (Prosser y Brown, 1960); y lo que parece ser una aparente insensibilidad o resistencia a cambios de temperatura, más bién es una capacidad de compensación muy rápida (Bullock, 1954). La respuesta de *Astraea undosa* ante la variación de la temperatura de éste experimento se considera favorable.

El incremento de temperatura es un promotor de la expulsión de gametos sin embargo existe un límite, después de 23°C el proceso se inhibe (siempre y cuando no haya aclimatación). Sin embargo Yool et al, (1986) reportan que obtuvieron un desóve de *Astraea undosa* al elevar la temperatura de 20°C a 24-25°C, tal parece que el mecanismo promotor de expulsión de gametos haya estado influenciado por un proceso de aclimatación hacia temperaturas superiores, resultando en un desplazamiento de la temperatura a la cuál se promueve la expulsión de gametos, lo cual está directamente relacionado con la temperatura del medio ambiente. De acuerdo a los datos obtenidos en este experimento (tabla II), el rango en el cuál sucede esta expulsión fue entre los 20°C y los 23°C.

Al parecer la respuesta del caracol no se modifica si el estímulo es lento o rápido, sino más bién al alcanzar la

temperatura mencionada (23 °C), y por lo reportado por Yool et al (1986), pareciera ser que puede presentar aclimatación.

El incremento térmico necesario para inducir la expulsión de gametos en *A. undosa* es similar al que en condiciones de laboratorio respondieron otros moluscos. Por ejemplo Iwata (1945) incrementó 5°C la temperatura, sin embargo Gotaro (1951), reporta que en escalopa basta elevar la temperatura 0.5 a 1.0°C.

En las pruebas que se hicieron tratando de estimular a los organismos mediante desecación, se notó claramente que las variaciones entre una duración del estímulo y otra deberían ser no mayor a los 90 minutos (tabla II), ya que en este tiempo se obtuvieron los mejores resultados, en cambio a los 120 min el porcentaje de respuesta comenzó a disminuir coincidiendo de este modo con los resultados de Carlisle (1945), cuando se indujo al desóve a algunos abulones mediante desecación, donde fué observado un tiempo óptimo de 75 minutos únicamente, sin embargo hay que considerar un elemento que definitivamente influye; como lo es el incremento de temperatura que sufre el organismo fuera del agua, lo cuál generalmente sucede, y no se considera la importancia que pueda tener como un elemento combinado al efecto de desecación, en el proceso de

promover la expulsión de gametos.

Se puede pensar que la desecación como tal no es un estímulo para expulsar gametos, más bien hay que considerar además de la variación de pH, el cambio de la temperatura, respiración anaeróbica, o al efecto combinado de estos.

Las sales de potasio en A. undosa no demostraron ser estímulos favorables. En los organismos que se les agregaron sales de potasio sobre el opérculo se cerraban inmediatamente y así permanecían, aún por 15 ó 25 minutos después de haber sido colocados en agua de mar. En el caso de los inyectados con sales, el 80% murieron al tercer día. En contraste con lo anterior Iwata (1947, 1950) reporta que las sales de potasio (principalmente KCl) son un inductor favorable para la inducción de gametos en los bivalvos Mytilus edulis, Venerupis philippinarum, Meretrix lusoria y Macra sulcataria. Carlisle (1965) inyectó sales de potasio (KCl) en Haliotis rufescens sin obtener expulsión de gametos. Al parecer los gasterópodos son más sensibles a ciertos iones.

En un experimento colateral se determinó que la sal KCl en concentración isotónica al agua de mar presenta alta toxicidad en células del epitelio branquial de A. undosa, causando la muerte de éstas después de 10-15 minutos

(Silva, 1990 com. pers.). La toxicidad de iones de potasio en concentración isotónica esta relacionada con un desbalance ionico y despolarización de las células (Prosser, 1968).

En A. undosa el uso de peróxido de hidrógeno en las concentraciones experimentadas no es un inductor para la expulsión de los gametos, lo anterior en base a observaciones directas, puesto que al ser colocados los caracoles en los acuarios con las concentraciones establecidas, estos cerraban el opérculo. En 10, 15 y 25 mM el caracol perdía la capacidad de mantenerse con el pie sobre el sustrato, pues al retraerse fuertemente en el interior de la concha, el centro de gravedad cambiaba y quedaban con el opérculo hacia arriba. Por la inhibición (o "stress") observado, y la evidencia experimental de investigadores en otros moluscos (Morse, 1977; 1978; Yool, 1986), se piensa que se deben de probar concentraciones menores de peróxido de hidrógeno.

En un experimento aislado con 5 caracoles y concentraciones de 2 mM, provocó una respuesta del 60 % por parte de los organismos. En general se considera que Astraea undosa requiere de concentraciones más bajas que 3mM. Morse et al (1977;1978) refiere que su uso es un

(*) M.C. Silva Loera A. 1990. Facultad de Ciencias Marinas U.A.B.C. Ensenada B.C.

fuerte promotor para la expulsión de gametos en moluscos en general (en concentración de 2 a 5 mM). Así mismo otros investigadores han encontrado que en gasterópodos es un estímulo positivo, por ejemplo en Haliotis coccinea canariensis (Peña, 1986).

Apesar de todas las ventajas que este método presenta, entre ellas el bajo costo de operación (solo en caso de tratarse de un laboratorio pequeño), la facilidad de obtener las sustancias químicas, también presenta ciertas desventajas ya, que debido a que es una sustancia química, las concentraciones utilizadas deberán ser correctas, pues son tóxicas para los gametos expulsados, por lo tanto se requiere de cierto entrenamiento químico al personal, además de que todo el tiempo deberá estar una persona presente vigilando los organismos, en caso de que alguno de los animales desove antes de lo previsto (Hahn, 1990).

En la inducción favorable de gametos por parte de los caracoles si implica un estado fisiológico de madurez y que los gametos expulsados estén maduros. Carlisle (1959), mencionó que una perturbación fuerte puede conducir a una expulsión de células inmaduras. Esto mismo lo confirmó posteriormente el mismo autor (1962) en Haliotis rufescens donde se observó que gametos obtenidos mediante perturbación no son fértiles.

Iwata (1952), dice que en los organismos que estan completamente maduros se podra dar expulsión de gametos que sean incapaces de ser fertilizados. Esto al parecer no sucede con Astraea undosa, ya que en todos los casos los óvulos siempre fueron fertilizados (Chulini, 1990), en tanto que la observación de las gónadas de hembras no desovadas, mostraron óvulos inmaduros, pues tenían presente una vesícula germinal, lo cual puede ser un indicador de inmadurez (Stephano H. com. pers. 1989).

(*) M.C. Stephano Hornedo J.L. 1989. Escuela Superior de Ciencias U.A.B.C. Ensenada B.C.

CONCLUSIONES.

Las conclusiones del presente trabajo son de la siguiente manera:

La sensibilidad o capacidad del caracol marino A. undosa para expulsar gametos mediante factores externos mostró ser altamente estimulada al incrementar la temperatura. El rango en el cual sucede la expulsión de gametos es entre los 20-24°C. Esto corresponde a un incremento lento o súbito, de 4°C a partir de la temperatura inicial en este experimento.

Con respecto a el uso de agua de mar fuertemente irradiada con luz ultravioleta, bastará con dar un estímulo de 120 min para que entre los 60 y 90 min siguientes observar la expulsión de gametos.

El uso de macerado de gametos masculinos en concentraciones de (3 a 6×10^5 espermatozoides/ml promovió la expulsión de gametos en un 80 % entre los siguientes 60 y 90 min de haber aplicado el estímulo, sin embargo cuando utilizamos concentraciones de 6 a 8×10^5 espermatozoides/ml el porcentaje de respuesta fue unicamente de un 8 %. El uso de macerado de gametos femeninos no lo favorece.

El método de peróxido de hidrógeno en concentración de 2 mM dió buenos resultados (60 % de respuesta), no obstante

el uso de concentraciones mayores no se deberan utilizar ya que inhiben el proceso de expulsión de gametos mostrando signos de fuerte "stress".

El uso de sales de potasio (K_2SO_4 , KCl, KBr, KI, y K_2NO_3) ya sea inyectadas o disueltas entre el manto, y el uso de descargas eléctricas (5, 10 y 20 v) con duración de 5 y 10 seg no promueven la expulsión de los gametos en Astraea undosa.

RECOMENDACIONES.

Debido a las experiencias obtenidas durante el desarrollo del presente trabajo, para la inducción a la expulsión de los gametos en Astraea undosa, se recomienda lo siguiente:

Primeramente se deberá de estimar la capacidad del laboratorio para mantener al numero deseado de organismos; es decir: suministro de agua, capacidad de filtración de agua, capacidad de los tanques para mantener los animales, disponibilidad y calidad del alimento.

Los organismos deberán de ser colectados en una época en que se presente la madurez sexual, esto para disminuir al mínimo el "stress" que en momento dado se pudiera provocar en los organismos al mantenerlos en condiciones de laboratorio.

Antes de llevar los caracoles al laboratorio, dejar los tanques con agua preparados a una temperatura similar a la que se espera estaran los organismos en el medio natural. Esto para evitar que suceda un shock térmico, y suceda la expulsión de los gametos antes de lo previsto.

Una vez que ha desaparecido el stress de los organismos que sufrieron durante su transporte al

laboratorio, si se desea se podrá realizar la determinación del sexo (ver apendice I), lo cual al momento de aplicar los estímulos y colectar los gametos para realizar las respectivas fertilizaciones, será más sencillo.

Durante todo el tiempo que esten los organismos en el laboratorio, se deberan de monitorear diariamente flujo de agua, temperatura del agua, cantidad y calidad del alimento dentro del estanque y en caso de encontrar algun organismo muerto retirarlo inmediatamente.

Existen algunos aspectos que sería conveniente investigar, como por ejemplo; establecer por medio de un diseño experimental adecuado en el que se compare la efectividad de alguno de los métodos que se encontró fueron los más favorables para estimular la expulsión de los gametos.

Además será importante analizar cual es el proceso sinérgico que involucra varios factores capaces de estimular la expulsión de gametos.

Asi mismo, será de utilidad conocer algunos aspectos sobre procesos de fertilización, como deformación del ovulo, capacidad de fertilización en función de alguno de los métodos. Mucho de lo anterior, hoy queda como recomendación ya que la labor que se efectuó durante tres

años de investigación es lo que hoy permite plantear estas sugerencias. Sin lo que se hizo, considerando que partimos de un desconocimiento total del organismo por falta de información escrita, no hubiera sido posible plantear estas, y otras más sugerencias.

APENDICE I.

Una vez que han transcurrido las dos semanas para que los organismos se acondicionen al ambiente de laboratorio, se realizó el sexado de los caracoles.

Para realizar la determinación del sexo de los organismos, se debiera de perforar una de las paredes de la concha a la altura de la gonada (ver figura 2) con una broca de 2 mm de diámetro, para de esta manera poder diferenciar el color de la gonada, y establecer el sexo del caracol. En *Astraea undosa* la hembra presenta una gonada de color café oscuro a verde, y en el macho la gonada es de un color blanco lechoso. Generalmente no será necesario perforar totalmente la concha, bastara con llegar a la capa nacarada para poder determinar el color de la gónada, lo cual aparte de ahorrar tiempo, disminuye de una manera notoria el "stress" en el organismo.

Una vez sexados los organismos se deberán colocar por separado (sexos) en sus estanques originales y se mantendrán en las mismas condiciones de laboratorio que se encontraban por un lapso de seis semanas para que se recuperen del tratamiento aplicado, y reparen la parte de la concha dañada.

BIBLIOGRAFIA.

Belmar, P. J. 1988. Estudio preliminar sobre la Biología reproductiva y aspectos ecologicos de Astraea undosa (Wood, 1828) (Mollusca, Gastropoda; Turbinidae). Tesis de Licenciatura. I. P. N. México, D. F. PP. 66.

Bullock T.H. 1954 Compensation for temperature in the metabolism and activity of poikilotherms. Biol. Rev., 30:311-342.

Carlisle J. 1945. The technique of inducing spawning in Haliotis rufescens swainson. Science 102 (2657): 566-567.

Carlisle J. 1962. Spawning & early life history of Haliotis rufescens swainson, Nautilus, 76,44.

Chavez Morales D. S. (1988). Estudio de distribución y abundancia de el caracol Astraea undosa (Wood, 1828), (Mollusca; Gasteropoda) en la Bahía de Todos Santos. (Nov. de 1987 a Abril de 1988). Tesis profesional. Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C. Ensenada, B.C.

Chulini Olivares J. E. 1990. Efecto de la temperatura, salinidad, y tiempo en la capacidad de fertilización de los gametos del caracol marino Astraea undosa (Mollusca : Gasteropoda). Tesis profesional. Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C. Ensenada B.C. 38 p.

Ebert E., Houk J. 1984. Elements and innovations in the cultivation of the red abalone Haliotis rufescens. Aquaculture, 39 375-392.

Galtsoff P. 1961. Physiology of reproduction in molluscs. Am. Zoologist, 1:273-289.

Giese A. 1959. Comparative physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. Annual review. 21:547-572.

Gotaro Y. 1951. Induction of spawning in the scallop, Pecten yessoensis. Biological Institute, Tohoku University, Sendai Japan. 1:7-10.

Grant. J. 1984. Abalone culture in Japan: development and current commercial practice. Tasmanian Fisheries Development A. Res. and Res. Lab. 2-16.

Hahn K. 1989. Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. Bodega Marine Laboratory. Bodega Bay California.

Hahn K. 1990. Abalone technique manual series. Induction of spawning Haliotis fulgens. Pacific aquaculture consulting.

Ino T. 1952. Biological studies on the propagation of

Japanese abalone (genus Haliotis). Tokai Regional Fish. Res. Lab. Bull. 5:102.

Ino T. 1970. Controlled breeding of molluscs. Indo Pacific Fisheries Council. F.A.O. 2-16.

Iwata, K. S. 1947. Artificial discharge of reproductive substances by K-salts injection in Mactra veneriformis (Bivalves). Bull Japan Soc. Sci. Fisheries, 13: 188-192.

Iwata, K. S. 1949. Spawning of Mytilus edulis. Discharge by electrical stimulation. Bull Japan Soc. Sci. Fisheries. 15:443-446.

Iwata K.S. 1950. Spawning of Mytilus edulis (4) Discharge by KCl injection. Bull Japan Soc. Sci. Fisheries. 1950 16:393-394.

Kanno H., Kikuchi S. 1962. On the rearing of Anadara Broughtoni (Scharennek) & Haliotis discus hannai. Ino. Bull. Mar. Biol. st Asamushi 11 (2): 71-76.

Kikuchi S., Uki N. 1984. Technical study on artificial spawning of abalone, genus Haliotis IV. Duration of fertility related to temperature. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. 34:73-76.

Kohn A. 1961. Chemoreception in gastropod molluscs. Am. Zoologist, 1:291-308.

Morse D. 1977. Hydrogen peroxide induces spawning in molluscs, with activation of prostaglandin endoperoxide synthetase. Science 196:298-300.

Morse E. Hooker N. Morse A. 1978. Chemical control of reproduction in bivalve and gastropod molluscs, III; an inexpensive technique for mariculture of many species. Proc. World Maricult. Soc., 9:543-547.

Murayama S. 1935. Tokio Imperial Univ., Coll Agric., 13(3):227-233.

Peña, J. B. 1986. Preliminary study on the induction of artificial spawning in Haliotis coccinea canariensis Nordsleck (1975). Aquaculture, 52: 35-41.

Prosser L. Brown E. 1968. Fisiologia comparada. Editorial interamericana S.A. México. 256-344.

Ramade Villanueva M. R. 1989. Efecto del tamaño corporal temperatura y sexo sobre la tasa metabólica del caracol Astraea undosa (mollusca, gasterópoda) en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura U.A.B.C. Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, B.C. 47 p.

Schwalm Ch. 1973. Population dynamics and energetics of Astraea undosa. Master of science. California State University, San Diego Ca.

Secretaria de Marina (1974). Estudio geográfico de la región de Ensenada, B.C. México. 456 p.

Seki T. 1979. An advanced biological engineering system for abalone seed production. International Symposium on coastal Pacific Marine Life. 45-54.

Uki N. 1974. On the effect of irradiated sea water with ultraviolet rays on inducing spawning of the scallop, Fatinopecten yessoensis. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. 34:87-92.

Uki N. 1982. Technical study on artificial spawning of abalone, genus Haliotis. VIII. Characteristics of spawning behavior of H. discus hannai induced by ultraviolet irradiation stimulus. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. 83-89.

Uki, N. Kikuchi, S. 1984. Regulation of maturation and spawning of an abalone Haliotis (Gastropoda) by external environmental factors. Aquaculture, 39:247-261.

Yool A. 1986. Excess potassium induces larval

metamorphosis in four marine invertebrate species. Biol.
Bull. 170:255-266.