

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

ACONDICIONAMIENTO DEL MEJILLON *Mytilus edulis* L :  
EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA PRODUCCION DE GAMETAS

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
O C E A N O L O G O  
PRESENTA:  
ADRIANA DEL CARMEN ALVARADO ENRIQUEZ

ENSENADA, B.C., OCTUBRE DE 1989

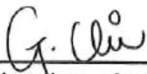
## I. RESUMEN

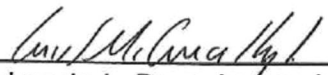
A lo largo de 1986, se realizaron cuatro experimentos de acondicionamiento en adultos de Mytilus edulis L. ( $6.8 \pm 0.26$  cm de longitud promedio) para inducir a la madurez gonadal y obtener gametas maduras durante la mayor parte del año. Se establecieron diferentes regímenes térmicos de acuerdo con la temperatura prevaleciente en el medio natural; se dió una ración alimenticia diaria equivalente al 3.4% del peso seco del tejido blando del mejillón. La condición reproductiva se evaluó aproximadamente cada diez días, mediante técnicas estereológicas. Se obtuvieron los volúmenes (en centímetros cúbicos) de cada uno de los siguientes componentes de la gonada: gametas maduras, gametas en desarrollo, células vesiculares, células adipogranulares y hemocitos. En todos los experimentos los volúmenes de gametas maduras fueron mayores en los machos que en las hembras. La mayor producción, en ambos casos, se obtuvo en dos ocasiones: a) cuando el acondicionamiento se inició en octubre, una vez completado el ciclo de acumulación de reservas e iniciada la gametogénesis y b) en diciembre durante la etapa de la restauración de la gonada.

ACONDICIONAMIENTO DEL MEJILLON *Mytilus edulis* L.:  
EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA PRODUCCION DE GAMETAS

T E S I S  
QUE PRESENTA:  
ADRIANA DEL CARMEN ALVARADO ENRIQUEZ

Aprobada por:

  
\_\_\_\_\_  
Presidente del Jurado  
Oc. Guillermina Chi Barragán.

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal Propietario  
Oc. Lewis McAnally Salas

  
\_\_\_\_\_  
p. p. Sinodal Propietario  
M.C. Guillermo Villarreal Ch.

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal Suplente  
M.C. Roxana Rico Mora

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal Suplente  
Oc. Victor Gendrop Funes

## AGRADECIMIENTOS

A lo largo de este trabajo tuve la suerte de contar con la ayuda de un gran número de amables personas. No me es posible, por falta de espacio, nombrarlas a todas, así que a todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron a este trabajo les doy mis más cumplidas gracias.

Sin embargo quiero agradecer profundamente la guía y apoyo de Guillermina Chi, directora de esta tesis y los acertados comentarios de mis sinodales Roxana Rico, Luis McAnally, Guillermo Villareal y Victor Gendrop, que amablemente lo revisaron y a Griselda Parés por su ayuda en el trabajo histológico.

Agradezco el apoyo que brindó el Instituto de Investigaciones Oceanológicas en cuyas instalaciones se realizaron los experimentos y al equipo de trabajo del Centro de Cómputo del CICESE quienes me auxiliaron en la Impresión.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
1. INTRODUCCION	1
2. MATERIALES Y METODOS	
2.1 Descripción de los experimentos	9
2.2 Descripción del sistema experimental	14
2.3 Procedimiento experimental	17
2.4 Análisis estadístico	20
3 RESULTADOS	
3.1 Experimento I	
3.1.1 Citología cuantitativa	22
3.1.2 Índice Gonadal	30
3.2 Experimento II	
3.2.1 Citología cuantitativa	33
3.2.2 Índice gonadal	39
3.3 Experimento III	
3.3.1 Citología cuantitativa	42
3.3.2 Índice gonadal	47
3.4 Experimento IV	
3.4.1 Citología cuantitativa	50
3.4.2 Índice gonadal	55
4. DISCUSION	58
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	70
6. LITERATURA CITADA	72
7. APENDICE A	77

## LISTA DE TABLAS

Tabla	<u>Página</u>
I. Calendario de los experimentos de acondicionamiento de <u>Mytilus edulis</u> .	10
II. Medias y desviaciones estándar de los volúmenes de los componentes celulares analizados en el experimento I. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	26
III. Medias y desviaciones estándar de los índices gonadales analizados en el experimento I. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	31
IV. Medias y desviaciones estándar de los volúmenes de los componentes celulares analizados en el experimento II. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	35
V. Medias y desviaciones estándar de los índices gonadales analizados en el experimento II. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	40
VI. Medias y desviaciones estándar de los volúmenes de los componentes celulares analizados en el experimento III. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	43
VII. Medias y desviaciones estándar de los índices gonadales analizados en el experimento III. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	48
VIII. Medias y desviaciones estándar de los volúmenes de los componentes celulares analizados en el experimento IV. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	51
IX. Medias y desviaciones estándar de los índices gonadales analizados en el experimento IV. Las desviaciones estandar entre paréntesis.	56

## LISTA DE FIGURAS

Figura	<u>Página</u>
1. Localización de las balsas de cultivo de mejillón <u>Mytilus edulis</u> en la Bahía de Todos Santos.	11
2. Diagrama del sistema experimental	15
3. Organismos del medio natural (Balsa) Medias de los componentes de la gónada. a) GD, gametas en desarrollo; b) GM, gametas maduras; c) ADG, células adipogranulares; d) VTC, células vesiculares. Hembras; Machos.	23
4. Organismos del medio natural (Balsa) Medias de los índices gonadales a) húmedo (IGH) y b) seco (IGS). Hembras; machos.	24
5. Experimento I. Medias de los volúmenes de los componentes de la gónada. a,d) GD, gametas en desarrollo; b,e) GM, gametas maduras; c,f) VTC, células vesiculares. Sistema A; Sistema B; Sistema C.	27
6. Experimento I. Medias de los índices gonadales a,c) húmedo (IGH) y b,d) seco (IGS). Sistema A; Sistema B; Sistema C.	32
7. Experimento II. Medias de los volúmenes de los componentes de la gónada. a,e) GD, gametas en desarrollo; b,f) GM, gametas maduras; c,g) ADG, células adipogranulares; d,h) VTC, células vesiculares. Sistema A; Sistema B; Sistema C.	36
8. Experimento II. Medias de los índices gonadales a,c) húmedo (IGH) y b,d) seco (IGS). Sistema A; Sistema B; Sistema C.	41
9. Experimento III. Medias de los volúmenes de los componentes de la gónada. a,e) GD gametas en desarrollo; b,f) GM, gametas maduras; c,g) ADG, células adipogranulares; d,h) VTC, células vesiculares. Sistema A; Sistema B; Sistema C.	44

(continuación)

10. Experimento III. Medias de los índices gonadales. a,c) húmedo (IGH) y b,d) seco (IGS). Sistema A; Sistema B; Sistema C. 49
11. Experimento IV. Medias de los volúmenes de los componentes de la gónada. a,d) GD, gametas en desarrollo; b,e) GM, gametas maduras; c,f) VTC, células vesiculares. Sistema A; Sistema B; Sistema C. 52
12. Experimento IV. Medias de los índices gonadales a,c) húmedo (IGH) y b,d) seco (IGS). Sistema A; Sistema B; Sistema C. 57

## 1. INTRODUCCION

La creciente demanda alimenticia de la población mundial hace necesario que la investigación científica se encamine a encontrar métodos y técnicas que permitan satisfacer estas necesidades de manera rápida y eficaz. La aculicultura, en este contexto, ocupa un lugar importante al orientarse en la investigación y explotación de especies adecuadas para el consumo humano. Entre éstas destacan los mejillones del género Mytilus, que desde hace mucho tiempo y debido a su amplia distribución, fecundidad y tasa de crecimiento han sido adaptados a sistemas de cultivo altamente exitosos en varios países del mundo (Joyner y Spinelli, 1969).

La operación de cultivo de mejillón a escala comercial tiene como factor limitante el abastecimiento de semilla en cantidades adecuadas y con una disponibilidad constante a lo largo del año. Las poblaciones del mejillón Mytilus edulis en las costas de la península de Baja California no son extensas, lo que impide la recolección de semilla en los bancos naturales. A esto se suman las fluctuaciones ambientales que ocasionan cambios en la cantidad de fijaciones encontradas en años sucesivos (IIO, 1984). De aquí que para asegurar la obtención de gametas viables y

larvas con una tasa de supervivencia óptima ya sea con fines experimentales o de producción comercial, sea preciso desarrollar técnicas de acondicionamiento de progenitores que produzcan dichas gametas.

El acondicionamiento de progenitores bajo condiciones controladas, consiste básicamente en la manipulación del ciclo gametogénico, mediante cambios de temperatura y suministro adecuado de alimento (Loosanoff y Davies, 1963).

La temperatura ha sido considerada como la variable ambiental que pone en movimiento la gametogénesis y determina el curso del desarrollo de las gametas y el desove (Bayne, 1976a), más aún podría ser un umbral térmico o posiblemente una tasa de cambio de la temperatura lo que influiría en este proceso (Bayne, 1975; Newell et al, 1982).

Thompson (1984) hace una revisión acerca de la considerable variación en la temperatura del agua característica de los habitats ocupados por M. edulis y menciona los siguientes ejemplos: de 8°C a 20°C en el estuario de Lyhner, Gran Bretaña (Bayne y Widdows, 1978); de 0°C a 25°C en Long Island Sound (Newell et al, 1982) y de 3°C a 15°C en el Mar del Norte (Bayne y Thompson, 1970). Bayne (1976) señala que las temperaturas por encima de los

20°C provocan en M edulis un deterioro en la respuesta adaptativa, lo que conduce a un reducido potencial de crecimiento y a una disminución en las calorías disponibles para el crecimiento y la gametogénesis.

Otros autores destacan la complejidad de los factores que intervienen en los procesos reproductivos de los Invertebrados. Bayne (1975) señala el gran gasto energético que representa la gametogénesis, el cual debe ser satisfecho por un aporte nutritivo, ya sea en forma de alimento en el medio o como reservas de nutrientes corporales; el mismo autor concluye que el alimento junto con la temperatura son las variables que contribuyen a la sincronización de las diferentes etapas de la gametogénesis. A partir de trabajos efectuados con Choromytilus meridionalis y Aulacomya ater, Griffiths (1977), concluye que en los mejillones que tienen regeneración intermitente de la gónada, la disponibilidad de alimento es de primera importancia en la maduración gonadal. Por otra parte, Lubet y Mathieu, (1982) establecen la identidad de ciertos mecanismos neurosecretorios que intervienen en el control de los procesos gametogénicos.

El ciclo reproductivo de M edulis ha sido objeto de numerosos estudios (Lubet, 1959; Suglura, 1959; Moore y

Reish, 1969 y Lowe et al, 1982). Gabbott (1975) en relación a esto establece que la sincronización de las diversas etapas que constituyen el ciclo gametogénico básico varía con la latitud, la distribución de altura en el litoral y la disponibilidad de alimento.

Tomando en cuenta los trabajos anteriores y los que sobre el ciclo bioquímico han efectuado Zandee et al, (1980) y Bayne et al, (1982) se tiene que existe una íntima relación entre el ciclo gametogénico y el ciclo de síntesis y almacenamiento de reservas de carbohidratos y lípidos seguidos de su utilización, así es posible caracterizar el ciclo gametogénico de M. edulis como sigue: en el verano con altas temperatura y abundancia de alimento hay un periodo de reposo sexual en el cual las reservas de lípidos carbohidratos y proteínas se acumulan en el manto. La síntesis de estas reservas y su utilización para el inicio de la gametogénesis tiene lugar en el otoño, seguida de la gametogénesis que ocurre en el invierno. En la primavera, con el aumento de la temperatura las gametas maduran rápidamente y sobreviene el desove seguido de un periodo de postdesove o reposo sexual. Estudios realizados por Chi-Barragán (en preparación) indican que las poblaciones de la Bahía de Todos Santos tienen, por lo general más de un desove en el ciclo anual; estos desoves parciales frecuentemente son seguidos por periodos de gametogénesis.

Estas emisiones parciales en un mismo ciclo anual también se reportan en las costas de Francia (Lubet, 1959) y en el mar de Wadden en Holanda (Pleeters et al. 1980).

En un trabajo sobre el ciclo gametogénico de M edullis, Lowe et al, (1982) describen el manto de esta especie como un tejido muy cambiante con tres componentes de ocurrencia estacional: células vesiculares del tejido conectivo (VTC), células adipogranulares (ADG) y gametas, además de la red de circulación sanguínea que comprende vasos, ductos y senos. Mientras las células VTC se encuentran en todos los bivalvos, las células ADG sólo han sido observadas en las familias Arcidae y Mytilidae (Gabbott, 1983).

Dados los diferentes requerimientos fisiológicos y alimenticios de poblaciones de una misma especie, separadas geográficamente (Loosanoff y Nomejko, 1951) es necesario conocer las necesidades particulares de una población para poder establecer regímenes de acondicionamiento que permitan la obtención de gametas viables.

Con fines de acondicionar y producir gametas en el laboratorio, varios investigadores han aplicado técnicas que involucran cambios de temperatura y ración alimenticia que han resultado exitosas en varias especies de bivalvos: Crassostrea virginica, (Loosanoof y Davies 1951; Price y

Maurer, 1971); Crassostrea gigas (Lannan, 1980); Ostrea edulis, Mercenaria mercenaria, Mya arenaria (Loosanoff y Davies, 1963), entre otras. Bayne (1965) logra mantener adultos de M edulis sexualmente maduros durante un año al conservarlos a temperaturas bajas (5°C) y con un suministro apropiado de alimento; Hrs-Brenko (1973) acelera el proceso de formación de gametas con incrementos graduales de temperatura.

Para evaluar correctamente la respuesta de los organismos a un estímulo determinado (temperatura, ración alimenticia, etc.) es necesario aplicar métodos confiables que permitan conocer la condición reproductiva en un momento dado del acondicionamiento. Los métodos utilizados para la evaluación de la condición reproductiva de los invertebrados marinos varía entre los diferentes grupos estudiados y los diferentes investigadores. El método más difundido es el índice gonadal; este índice puede ser calculado de diferentes maneras pero usualmente es la razón del peso (o volumen) de la gónada con el peso (o volumen) del animal completo, expresado en porcentaje (Giese y Pearse, 1974).

Sin embargo el solo uso de este método puede conducir a evaluaciones incorrectas de la condición reproductiva de una población. En especies que poseen un ciclo de

acumulación de reservas paralelo al ciclo gametogénico, como es el caso de M edulis, un incremento o decremento del Índice gonadal puede ser consecuencia de un cambio en la masa de tejido nutritivo sin un cambio correspondiente en el tejido gametogénico.

Por esta razón se ha utilizado el análisis histológico que permite evaluar los procesos que ocurren dentro de la gónada. El establecimiento de criterios de madurez gonadal (Chipperfield, 1953; Lubet, 1959) mediante el análisis microscópico de secciones histológicas de la gónada, aunque mejora la estimación de la condición reproductiva es un análisis subjetivo y no da ninguna información con respecto al ciclo de acumulación de células de reserva en el manto.

Como un medio de hacer estudios citológicos cuantitativos, tanto del ciclo gametogénico como del ciclo de acumulación de reservas, se ha hecho uso de la estereología. Esta técnica ha sido utilizada en el estudio del ciclo reproductivo de bivalvos, específicamente de M edulis en las costas de Inglaterra (Lowe et al, 1982) y en la costa este de Estados Unidos (Newell et al, 1982). Esta técnica se define como la interpretación tridimensional de imágenes planas por el criterio de probabilidad geométrica, i.e. la extrapolación de un espacio bidimensional a uno tridimensional (Elias et al., 1971).

## 2. OBJETIVO

Establecer una rutina de acondicionamiento que permita mantener progenitores maduros de Mytilus edulis la mayor parte del año.

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1 DESCRIPCION DE LOS EXPERIMENTOS

Para abarcar las cuatro estaciones del año se efectuaron cuatro experimentos de acondicionamiento, con distintos periodos de duración, de febrero de 1986 a enero de 1987. Las fechas de inicio, término y duración de cada fase, así como el régimen térmico aplicado y los días de muestreo de cada condición experimental se presentan en la Tabla I.

Los organismos que se utilizaron en este trabajo se colectaron en las balsas de cultivo comercial de mejillón que la Compañía Martesano S.A. tiene ubicadas dentro de la Bahía de Ensenada, en Punta Banda (Figura 1).

Las temperaturas iniciales de cada sistema experimental, se establecieron de acuerdo a la temperatura prevaleciente en el medio natural al momento de iniciar el experimento.

Tabla I.- Calendario de los experimentos de acondicionamiento de *Mytilus edulis*.

Experimento	Sistema	Periodo	Dias	(*)	(**)
				Temp.	Evaluaciones
I. Primavera	A	13-II, 8-III	23	14-22	9-15-23
	B	13-II, 28-III	44	14-22	16-30-44
	C	13-II, 19-IV	65	14-22	23-44-65
II. Verano	A	12-VIII, 8-IX	28	20-15	10-19-28
	B	12-VIII, 8-IX	28	20 cte	10-19-28
	C	12-VIII, 8-IX	28	20-21	10-19-28
III. Otoño	A	23-X, 24-IX	36	20 cte	14-25-36
	B	23-X, 24-IX	36	18-15	14-25-36
	C	23-X, 24-IX	36	18-21	14-25-36
IV. Invierno	A	8-XII, 4-I	28	17-13	10-17-28
	B	8-XII, 4-I	28	17 cte	10-17-28
	C	8-XII, 4-I	28	17-21	10-17-28

(\*) Grados centígrados

(\*\*) Número de días a partir del inicio del experimento

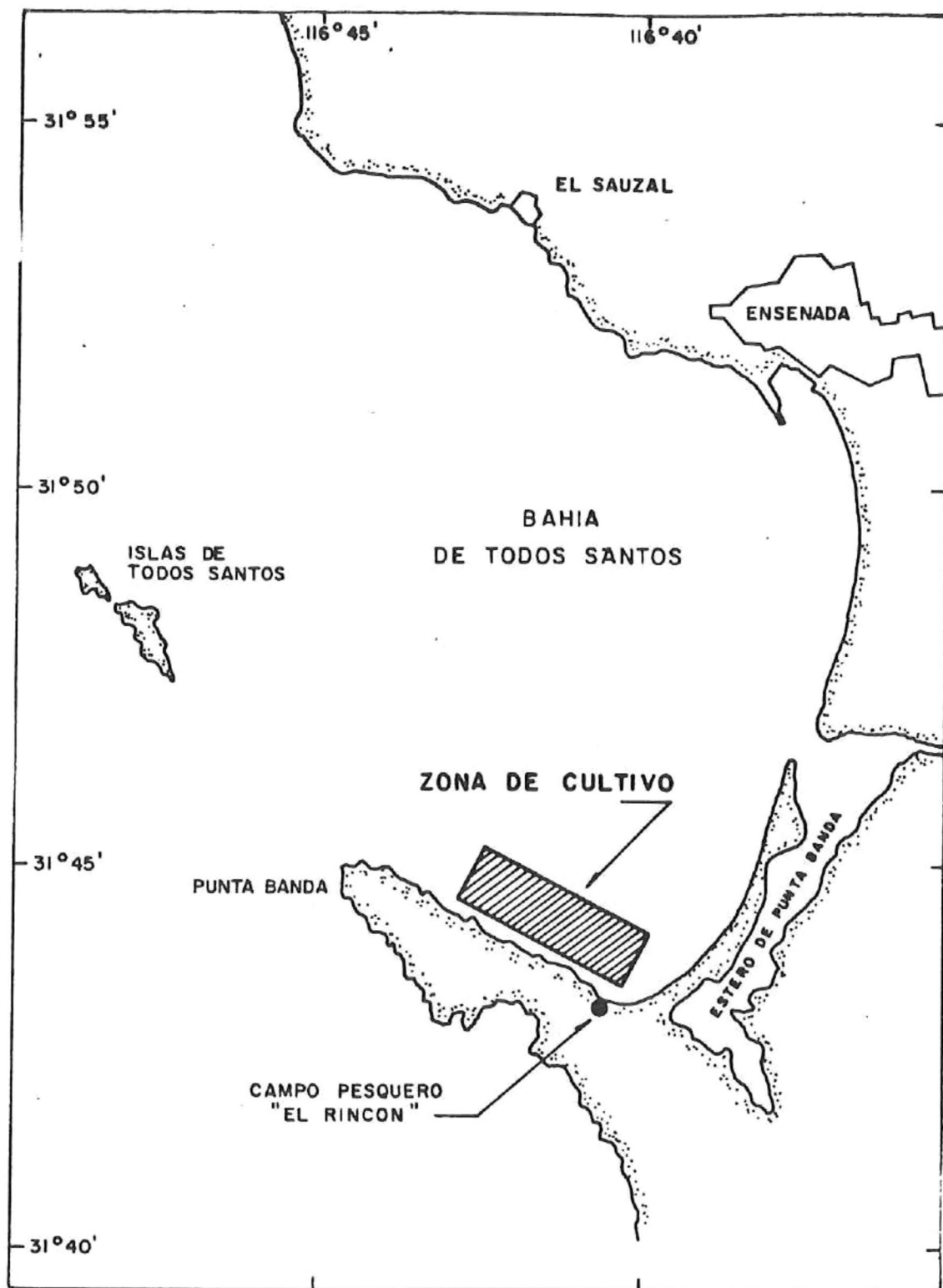


FIGURA 1. Localización de las balsas de cultivo de mejillón *Mytilus edulis* en la Bahía de Todos Santos.

En el Experimento I de primavera, se consideró un solo intervalo de valores de temperatura ( $14^{\circ}\text{C}$  a  $22^{\circ}\text{C}$ ) con tres distintos periodos de incremento gradual. En el primer sistema A, se estableció un periodo de ascenso corto (23 días) con evaluaciones a los 9, 15 y 23 días de iniciado el experimento; el sistema B tuvo una duración de 44 días con evaluaciones los días 16, 30 y 44; y el periodo de ascenso más largo se adjudicó al sistema C con 65 días y evaluaciones a los 23, 44 y 65 días.

El Experimento II de verano comenzó el día 12 de agosto y finalizó el día 8 de septiembre. La temperatura base fueron los  $20^{\circ}\text{C}$ . El régimen de enfriamiento se adjudicó al sistema A que descendió a  $15^{\circ}\text{C}$ ; el sistema B se mantuvo constante a  $20^{\circ}\text{C}$  y el sistema C ascendió a  $21^{\circ}\text{C}$ . En este experimento los tres sistemas tuvieron una duración de 28 días con evaluaciones los días 10, 19 y 28 después de iniciado el experimento.

Al inicio del Experimento III de otoño, la temperatura del agua fue de  $20^{\circ}\text{C}$ , el sistema A se mantuvo constante a  $18^{\circ}\text{C}$ ; en el sistema B se estableció un régimen de enfriamiento de  $18^{\circ}\text{C}$  a  $15^{\circ}\text{C}$  y en el sistema C la temperatura se incrementó a  $21^{\circ}\text{C}$ . Los tres tuvieron una duración de 36 días con evaluaciones los días 14, 25 y 36.

El experimento IV de Invierno dió comienzo el 8 de diciembre, mes en el que la temperatura superficial del agua fue de 17°C; el régimen de enfriamiento de 17°C a 13°C se estableció en el sistema A; la temperatura constante de 17°C se mantuvo en el sistema B y el sistema C tuvo un régimen de calentamiento de 17°C a 21°C. Este experimento tuvo una duración de 28 días con evaluaciones a los 10, 17 y 28 días.

Similarmente a las evaluaciones en el laboratorio se hicieron evaluaciones mensuales en la balsa de cultivo, con el fin de comparar el ciclo reproductivo del mejillón en el medio natural, con la condición reproductiva alcanzada por los organismos sujetos a experimentación.

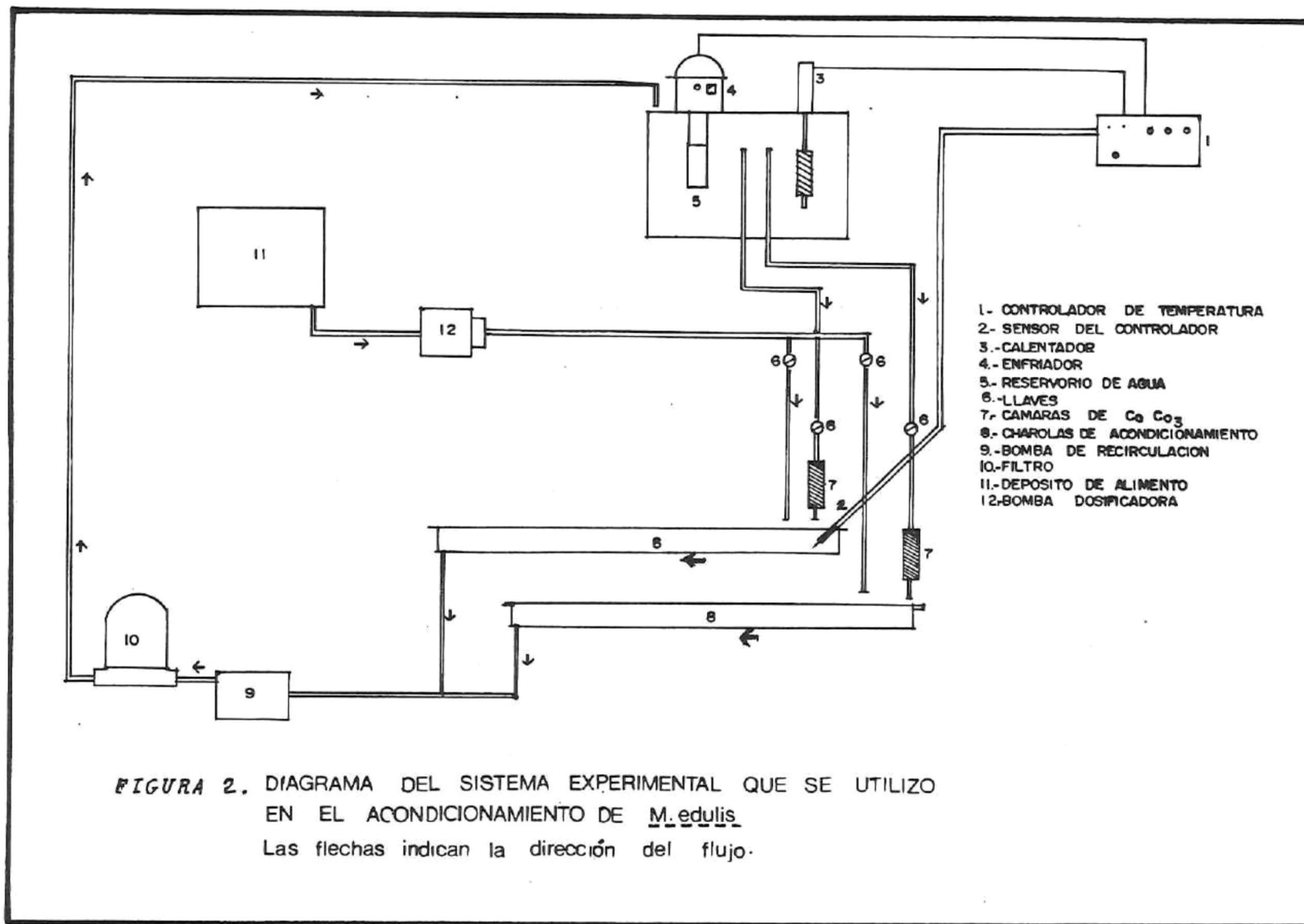
## 2.2 DESCRIPCION DEL SISTEMA EXPERIMENTAL

Los experimentos se llevaron a cabo en tres sistemas semicerrados, contruidos ex profeso en el Laboratorio de Acuacultura del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la UABC.

Los componentes de los sistemas se muestran en la Figura 2.

La circulación del agua de mar dentro del sistema se mantuvo constante a un flujo de 42 l/h con una bomba centrífuga de 1/12 HP marca Little Giant. Los mejillones se colocaron en canastas de plástico en el interior de la charola superior. Semanalmente el agua de cada sistema era renovada con agua de mar filtrada y tratada con ultravioleta.

Con el fin de asegurar la remoción de partículas orgánicas disueltas y mantener la limpieza del sistema, se colocó un filtro de carbón activado. La estabilidad del pH se controló con una cámara de carbonato de calcio (concha de ostión triturada) colocada en el tubo de salida del agua a cada charola.



Las temperaturas experimentales se regularon con un controlador de temperatura Yellow Spring modelo 714, auxiliado por un sensor, al cual se conectaron un enfriador de agua de mar de 1HP, marca Frigid Units modelo BHL y un calentador sumergible de 1000 watts. Estos se colocaron en un tanque de fibra de vidrio de 400 litros de capacidad y recubierto con material aislante.

La alimentación de los mejillones experimentales consistió en una mezcla de las microalgas Isochrysis aff. galbana var. tahitiana y Tetraselmis suecica (Kyllin) provenientes de cultivos semicontinuos monoespecíficos. Se utilizó la proporción de 6:1 con el fin de minimizar las diferencias atribuibles al uso de microalgas de tamaños diferentes. La cantidad de alimento se administró con base en las determinaciones de tasa de filtración que realizó Sosa-Medina (en preparación), volúmenes que aseguraban una razón equivalente a 0.599 mg de peso seco de microalga por litro de agua de mar y que significaban una ración por encima de la ración de mantenimiento de esta especie. Bayne (1976b) recomienda para fines de acondicionamiento la administración de una ración equivalente 1% a 3% del peso seco del tejido blando del organismo.

### 2.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Los mejillones se colectaron en la balsa de cultivo ya mencionada y se transportaron dentro de las 24 horas siguientes al laboratorio en donde se limpiaban de epibiontes.

Para cada sistema se seleccionaron 240 mejillones con longitud media de  $6.8 \pm 0.26$  cm tomándose muestras de 10 organismos a los intervalos previamente establecidos según las condiciones experimentales, con el fin de determinar el progreso en el acondicionamiento de los mejillones.

A cada mejillón se le determinaron los pesos húmedo y seco del total en gramos y el de la gónada disectada del manto y de la masa corporal. Con estos datos se calculó el índice gonadal de acuerdo con la fórmula:  $\text{peso de la gónada} / \text{peso total} \times 100$  (Gleese y Pearse, 1974).

El análisis histológico del material reproductivo se hizo en secciones de aproximadamente 1 x 1 cm tomadas de la región media de uno de los lóbulos del manto. En bioensayos previos a este análisis se determinó que las diferencias entre secciones tomadas de distintos puntos de la gónada no son significativas, lo que permite considerar homogéneo el material reproductivo y representativa la

sección extraída de la región media.

Las secciones se fijaron en solución Bouin durante 24 horas, se pasaron a un procesador automático de tejidos (Histokinet) en donde se deshidrataron con una serie ascendente de alcohol etílico, se aclararon con xileno y posteriormente se embebieron en baños de parafina (Paraplast) a 56 C según la técnica descrita por Bayne (1985). Una vez obtenidas las inclusiones en bloques de parafina se hicieron cortes de  $7\mu$  con un microtomo de rotación American Optical, se tiñeron con hematoxilina de Harris y se contrastaron con eosina (Humason, 1979).

El estudio estereológico de los componentes gonadales se hizo mediante conteo de 100 puntos en una rejilla (Microlocator, American Scientific Products) sobrepuesta a la sección de tejido. Se contaron cinco campos elegidos al azar. Estos datos se utilizaron para obtener la fracción volúmetrica la cual determina el porcentaje de tejido ocupado por el tipo de célula o componente del tejido que sea de interés. Estas fracciones varían según el progreso del ciclo gametogénico.

Los componentes celulares analizados en este trabajo fueron: gametas maduras (GM), gametas en desarrollo (GD), células vesiculares del tejido conectivo (VTC), células

adipogranulares (ADG), material en reabsorción (MC) y los hemocitos. Los volúmenes de estos componentes se expresaron en centímetros cúbicos (cc).

El valor absoluto del volumen de cada componente, se obtuvo relacionando el valor de la fracción volumétrica con el volumen de la gónada completa, determinado por desplazamiento en probetas de 10 ml.

Como una aproximación al conocimiento de la condición fisiológica de los organismos utilizados en este trabajo, a lo largo de la discusión se hará referencia al trabajo de Sosa-Medina (en preparación). Este estudio consistió en la evaluación de ciertas variables fisiológicas (tasa de filtración, eficiencia de asimilación y consumo de oxígeno) efectuadas sobre los mejillones sujetos de este estudio. Con estas mediciones y a partir de conceptos de Integración fisiológica, como el potencial de crecimiento (Bayne, 1976) fue posible determinar estados de equilibrio fisiológico o de estrés de estas poblaciones en un momento dado.

## 2.4 ANALISIS ESTADISTICO

Para determinar las diferencias estadísticas entre las respuestas de los mejillones de cada régimen experimental entre sí y contrastarlos con el estado reproductivo del medio natural, se aplicaron análisis de varianza no paramétrico (prueba de Kruskal-Wallis) como alternativa adecuada a tratamientos de muestras pequeñas (Siegel, 1960). Además como análisis a posteriori se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples.

Ambas pruebas se aplicaron tanto a los resultados de los análisis estereológicos de los componentes de la gonada, como a los de los índices gonadales húmedo y seco.

Las hipótesis que se probaron fueron las siguientes:

a) Si los organismos se encuentran en estado de tensión fisiológica en el medio natural, las condiciones experimentales reestablecerán el equilibrio metabólico y permitirán la disponibilidad de energía para la producción somática y gonadal

b) Cuando los mejillones se encuentren en condiciones fisiológicas normales (o una vez reestablecido el equilibrio metabólico) la respuesta dependerá de la etapa

del ciclo reproductivo en que se inicien los experimentos y las temperaturas experimentales. En el estado de reposo y acumulación de reservas, ésta procederá con mayor rapidez en las temperaturas más elevadas; una vez completada la acumulación de reservas, las bajas temperaturas iniciarán la gametogénesis. En los estadios de oogénesis y vitelogénesis la velocidad de los procesos se verá incrementada por las temperaturas superiores a las del medio natural. En la etapa de restauración de la gónada se acelerará con las temperaturas elevadas.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 EXPERIMENTO I

##### 3.1.1 CITOLOGIA CUANTITATIVA

###### Organismos del campo.

En febrero, los mejillones provenientes del medio natural presentaron poca actividad gametogénica evidenciada por los bajos volúmenes de gametas maduras (GM) y gametas en desarrollo (GD). Los volúmenes promedio de GM en machos y hembras fueron de 0.399 cc y 0.127 cc, respectivamente. Los volúmenes de GD fueron 0.365 cc y 0.091 cc en el mismo orden. La acumulación de reservas en las células vesiculares (VTC) de ese año comienza a partir de febrero, cuando el volumen de estas células alcanzó 0.204 cc en los machos y 0.115 cc en las hembras. Con respecto a las células adipogranulares (ADG), durante este mes se registraron los volúmenes más bajos del año 1986 con 0.008 cc en los machos y 0.015 cc en las hembras (Figura 3).

Los resultados de los análisis de varianza no paramétricos (Prueba de Kruskal-Wallis) se presentan en tablas en el Apéndice A. Asimismo se presentan los resultados de las pruebas de comparaciones múltiples que se aplicaron.

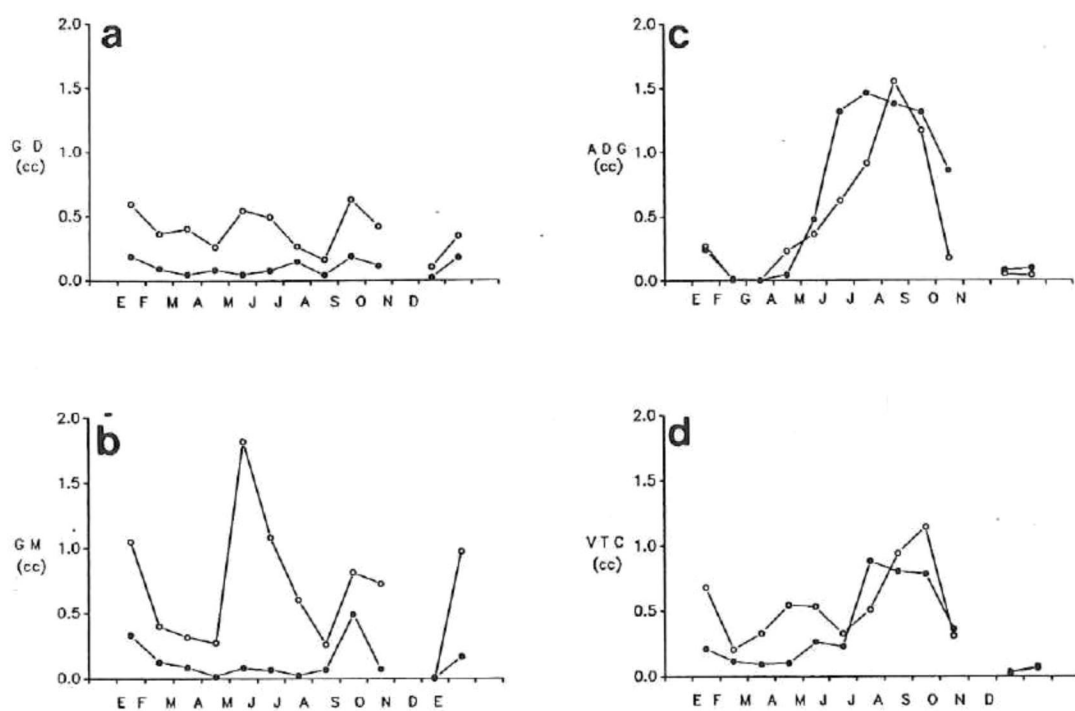


FIGURA 3. Organismos del medio natural (Balsa) Medias de volúmenes de los componentes de la gonada. a) GD, gametas en desarrollo; b) GM, gametas maduras; c) ADG, células adipogranulares; d) VTC, células vesiculares. ● Hembras; ○ machos.

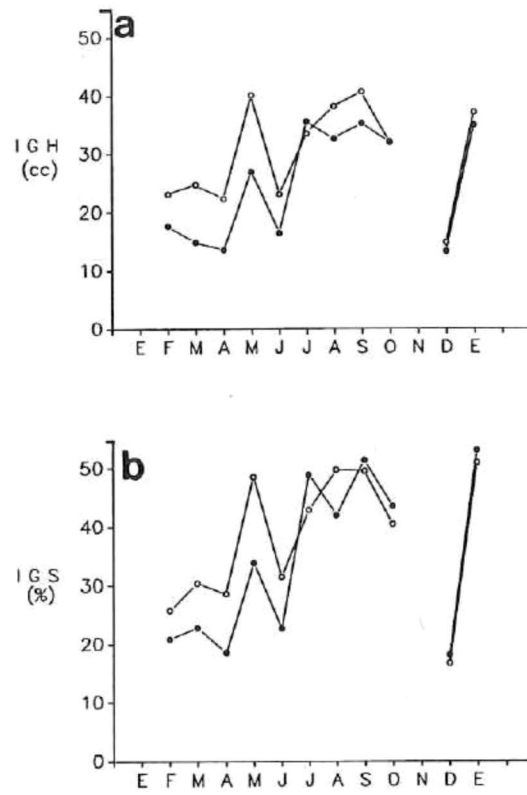


FIGURA 4. Organismos del medio natural (Balsa) Medias de Indices gonadales a) húmedo (IGH) y b) seco (IGS). ● Hembras; ○ machos.

### Organismos experimentales

Machos.- La producción de GD siguió una pauta similar en las tres condiciones experimentales (Tabla II y Figura 5a). En las tres se registraron descensos altamente significativos con respecto al valor inicial (con  $P = 0.009$  en el sistema A y  $P = 0.001$  en los sistemas B y C) los días 16, 23 y 44. En los tres casos la temperatura experimental en esa evaluación fue de 19 C. Al proseguir el aumento de la temperatura, se registraron ligeros incrementos en los tres sistemas aunque en los sistemas A (0.262 cc) y C (0.281 cc) no resultaron significativos y el volumen final del sistema B fue significativamente menor ( $P = 0.05$ ) que el volumen inicial (0.365 cc). Al comparar los resultados de los sistemas A y B con los resultados del medio natural en el mes de marzo, este último valor resultó mayor de forma muy significativa ( $P = 0.005$ ) en comparación con valores experimentales. La comparación del volumen final de GD del sistema C con el valor determinado del campo en abril no resultó significativa ( $P = 0.861$ ).

Tabla II.- Medias y desviaciones estandar de los volúmenes de los componentes celulares analizados en el experimento I.  
Las desviaciones estandar entre parentesis

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----		
A	B	C	A	B	C
GAMETAS EN DESARROLLO					
0.365 (0.11)	0.365 (0.11)	0.365 (0.11)	0.091 (0.05)	0.091 (0.05)	0.091 (0.07)
0.299 (0.05)	0.261 (0.07)	0.217 (0.1)	0.053 (0.04)	0.064 (0.04)	0.105 (0.18)
0.139 (0.03)	0.091 (0.04)	0.219 (0.03)	0.048 (0.02)	0.058 (0.02)	0.177 (0.20)
0.262 (0.07)	0.134 (0.13)	0.281 (0.07)	0.023 (0.01)	0.018 (0.02)	0.069 (0.23)
GAMETAS MADURAS					
0.399 (0.09)	0.399 (0.09)	0.399 (0.09)	0.127 (0.07)	0.127 (0.07)	0.127 (0.05)
0.372 (0.2)	0.676 (0.23)	0.401 (0.19)	0.105 (0.09)	0.194 (0.14)	0.347 (0.05)
0.584 (0.12)	0.797 (0.12)	0.468 (0.22)	0.272 (0.16)	0.256 (0.14)	0.269 (0.16)
0.674 (0.12)	0.806 (0.33)	0.387 (0.18)	0.085 (0.03)	0.176 (0.16)	0.261 (0.06)
CELULAS VESICULARES					
0.204 (0.15)	0.204 (0.15)	0.204 (0.15)	0.117 (0.013)	0.117 (0.13)	0.117 (0.13)
0.091 (0.02)	0.136 (0.05)	0.101 (0.03)	0.032 (0.01)	0.041 (0.02)	0.131 (0.07)
0.059 (0.00)	0.148 (0.07)	0.219 (0.10)	0.041 (0.04)	0.140 (0.08)	0.093 (0.06)
0.117 (0.03)	0.141 (0.03)	0.237 (0.06)	0.077 (0.05)	0.212 (0.16)	0.216 (0.05)

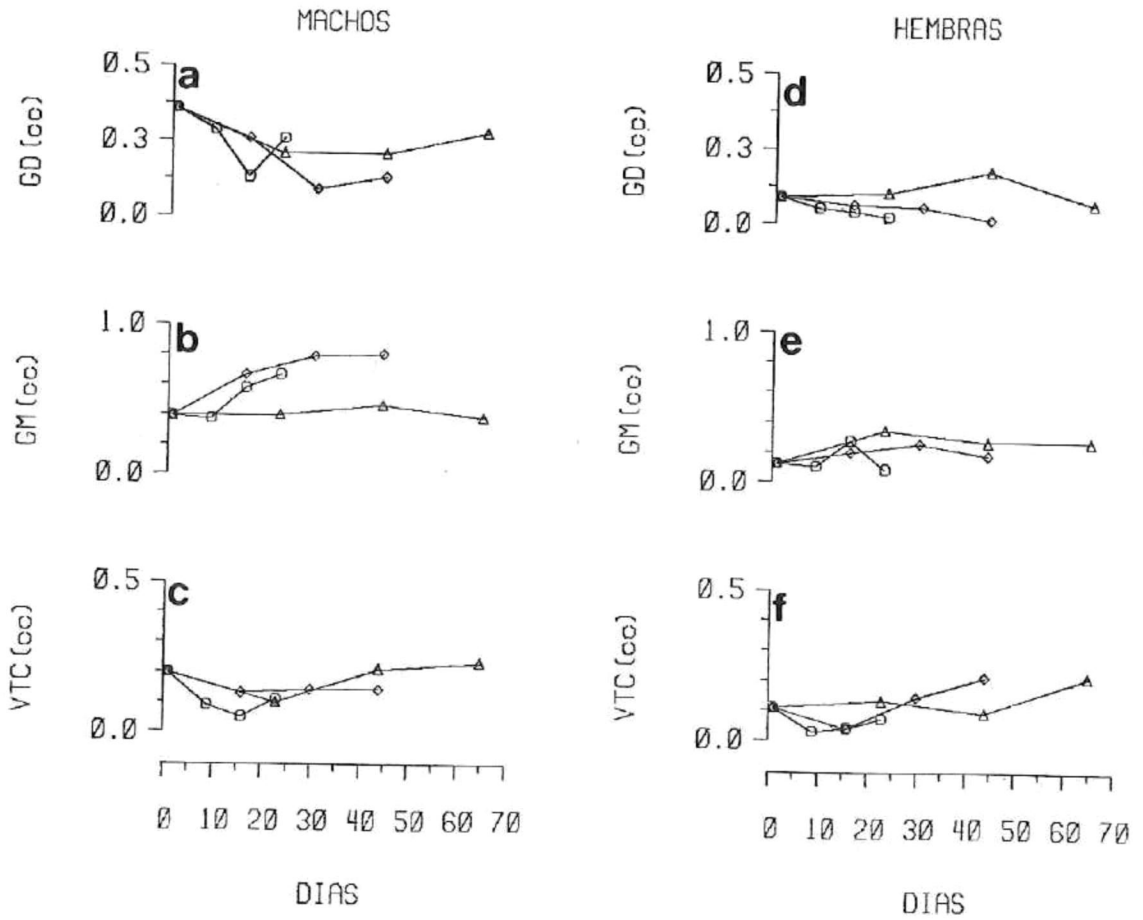


FIGURA 5. Experimento I. Medias de los volúmenes de los componentes de la gonada. a,d) GD, gametas en desarrollo; b,d) GM, gametas maduras; c,f) VTC, células vesiculares. O Sistema A;  $\diamond$  Sistema B;  $\Delta$  Sistema C.

Con respecto a la producción de GM (Figura 5b) el sistema B produjo el doble (0.806 cc) del volumen inicial (0.399 cc); le siguió el sistema A con 0.674 cc. Estos incrementos fueron muy significativos ( $P = 0.009$ ) en relación al volumen final obtenido por el sistema C (0.387 cc) y al volumen inicial. Los volúmenes finales de los sistemas A y B aumentaron significativamente ( $P = 0.021$ ) en relación al valor de los organismos del campo en el mes de marzo (0.318 cc). El incremento del volumen en el sistema C no fue significativo ( $P = 0.408$ ) cuando se comparó con el valor obtenido por los organismos del campo en abril (0.271 cc).

Los volúmenes finales de las células VTC en los tres sistemas (0.117 cc, 0.141 cc y 0.237 cc para A, B y C respectivamente) no mostraron cambios significativos ( $P > 0.05$ ) al compararlos con el volumen inicial (0.204 cc), con los valores de los organismos del campo en marzo (0.330 cc) ni con los de abril (0.544 cc) (Figura 5c).

Hembras.- En las hembras se observaron decrementos en los volúmenes finales de GD (Figura 5d). Los valores del sistema A (0.023 cc) y del sistema B (0.018 cc) estuvieron significativamente por abajo ( $P = 0.030$ ) del valor inicial (0.091 cc) en tanto que el valor final del sistema C (0.069 cc) no registró cambios. Al comparar los valores

experimentales del sistema A y del B con el volumen de los organismos del campo en marzo (0.046 cc), fecha coincidente con el fin del experimento no se registraron diferencias significativas ( $P = 0.113$ ). Tampoco el sistema C mostró diferencias significativas ( $P = 0.665$ ) al compararlo con el valor del medio natural en abril (0.083 cc).

La producción de GM (Figura 5e) en los sistemas experimentales no mostró cambios significativos ( $P = 0.408$ ) con respecto al valor inicial (0.127 cc). Tampoco se registraron cambios con respecto al valor obtenido por los organismos del campo en abril (0.017 cc), a excepción del sistema C (0.261 cc) que registró un incremento significativamente mayor ( $P = 0.047$ ) que el obtenido por los organismos del campo en abril (0.017 cc).

El material de reserva de las células VTC (Figura 5f) se incrementó muy significativamente ( $P = 0.006$ ) en los sistemas B (0.212 cc) y C (0.144 cc) con respecto al volumen inicial (0.115 cc). El volumen final en el sistema A (0.077 cc) permaneció cercano al valor inicial. En la comparación de los valores experimentales con los valores del campo al final del experimento, el incremento del sistema B resultó muy significativo ( $P = 0.016$ ).

### 3.1.2 INDICE GONADAL

Machos.- Tanto el Índice gonadal húmedo (IGH) como el Índice gonadal seco (IGS) de los machos (Tabla III y Figura 6a,b) reflejaron los aumentos en los volúmenes de GM registrados en los sistema A y B. El primer sistema obtuvo un valor de IGH de 24.30% y de IGS de 34.77% y el segundo de 24.52% y 32.90% en el mismo orden. Sin embargo los valores más altos los registró el sistema C con 28.42% y 36.95% en el IGH e IGS, respectivamente.

Hembras.- Los índices gonadales en las hembras de los sistemas A y B se comportaron de manera similar: con el incremento de la temperatura aumentaron a un máximo en el segundo muestreo, a los 16 días en al sistema A y a los 30 en el sistema B. Estos máximos coincidieron con la temperatura experimental de 19 C; al continuar el aumento de la temperatura los índices disminuyeron a porcentajes menores que el valor inicial (Figura 6c,d). El sistema A tuvo un IGH de 14.22% y un IGS de 22.15%. El sistema B 19.26% y 27.89%, en el mismo orden. Estas variaciones no fueron significativas ( $P > 0.05$ ). El sistema C logró un porcentaje final en el IGS (29.77%) que fue significativamente mayor ( $P = 0.05$ ) que los demas sistemas. El valor de IGH fue de 21.35%.

Tabla III.- Medias y desviaciones estandar de los volúmenes de de componentes celulares analizados en el experimento II. Las desviaciones estandar entre parentesis.

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----		
A	B	C	A	B	C
GAMETAS EN DESARROLLO					
0.163 (0.14)	0.163 (0.14)	0.163 (0.14)	0.041 (0.01)	0.041 (0.06)	0.041 (0.06)
0.396 (0.14)	0.558 (0.37)	0.407 (0.25)	0.014 (0.01)	0.117 (0.08)	0.178 (0.15)
0.663 (0.37)	0.436 (0.26)	0.363 (0.23)	0.154 (0.09)	0.417 (0.23)	0.216 (0.20)
0.613 (0.37)	0.479 (0.17)	0.360 (0.22)	0.069 (0.08)	0.175 (0.10)	0.395 (0.24)
GAMETAS MADURAS					
0.258 (0.26)	0.258 (0.26)	0.258 (0.26)	0.067 (0.07)	0.067 (0.07)	0.067 (0.07)
0.300 (0.18)	1.304 (1.48)	0.942 (0.52)	0.000 (0.00)	0.021 (0.01)	0.100 (0.15)
0.635 (0.30)	1.074 (0.65)	0.914 (0.66)	0.159 (0.01)	0.320 (0.22)	0.150 (0.19)
0.810 (0.54)	1.597 (0.64)	1.283 (0.50)	0.010 (0.01)	0.124 (0.13)	0.323 (0.20)
CELULAS VESICULARES					
0.943 (0.51)	0.943 (0.51)	0.943 (0.51)	0.802 (0.52)	0.802 (0.52)	0.802 (0.52)
0.859 (0.34)	0.353 (0.22)	0.709 (0.27)	0.712 (0.14)	0.915 (0.02)	0.644 (0.02)
1.297 (0.36)	0.661 (0.40)	0.924 (0.30)	0.802 (0.17)	0.879 (0.19)	0.616 (0.19)
0.904 (0.42)	0.708 (0.19)	0.589 (0.35)	0.585 (0.52)	0.558 (0.53)	0.987 (0.53)
CELULAS ADIPOGRANULARES					
1.547 (0.75)	1.547 (0.75)	1.547 (0.75)	1.373 (1.00)	1.373 (1.00)	1.373 (1.00)
1.392 (0.75)	0.355 (0.50)	0.669 (0.44)	1.040 (0.3)	1.370 (0.80)	1.189 (0.61)
0.764 (0.00)	0.563 (0.45)	0.840 (0.69)	0.942 (0.57)	1.170 (0.64)	1.074 (0.54)
0.733 (0.35)	0.333 (0.20)	0.512 (0.49)	0.475 (0.26)	1.547 (1.46)	0.781 (0.35)

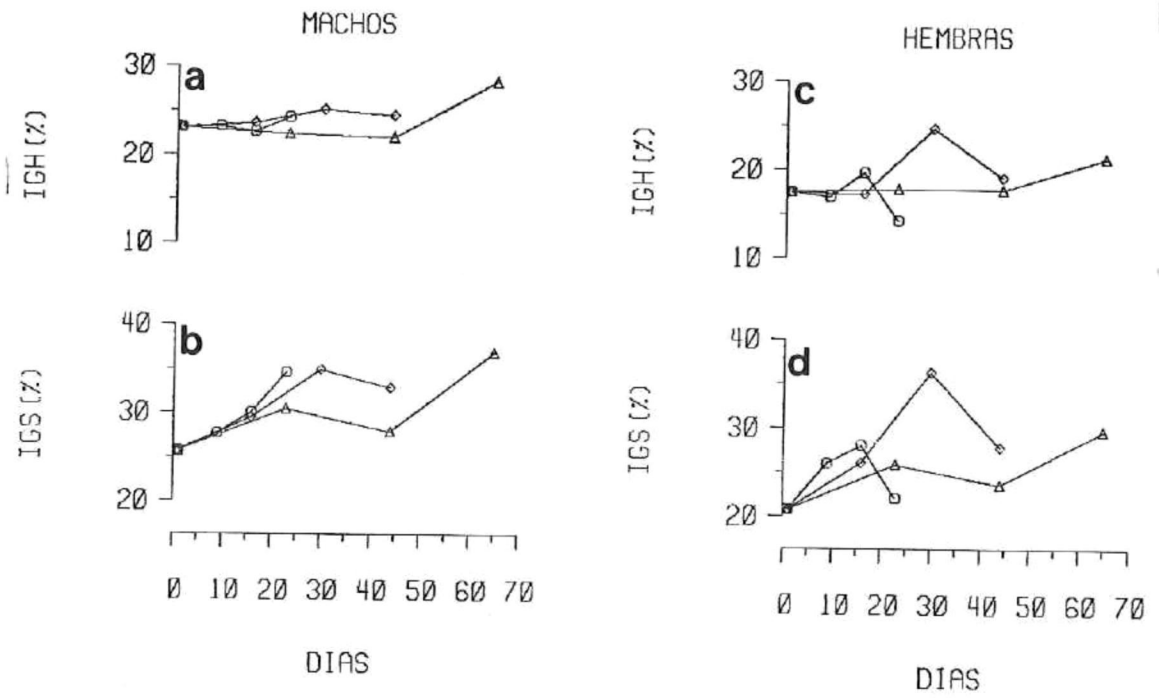


FIGURA 6. Experimento I. Medias de los índices gonadales a,c) húmedo (IGH) y b,d) seco (IGS). O Sistema A; ◇ Sistema B; △ Sistema C.

## 3.2 EXPERIMENTO II

### 3.2.1 CITOLOGIA CUANTITATIVA

#### Organismos del campo

Los resultados del análisis estereológico, muestran que en agosto, se encontraban en una fase de reposo sexual con poca actividad gametogénica (Figura 3). Los machos registraron un volumen de GM de 0.258 cc, en tanto que en las hembras fue de 0.067 cc. Los volúmenes de GD para machos y hembras fueron de 0.163 cc y 0.041 cc, respectivamente.

Simultáneamente se observa una marcada acumulación de material de reserva con los volúmenes de células VTC y ADG mas altos del año. En las primeras, los machos presentaron 0.943 cc y las hembras 0.802 cc, los volúmenes de células ADG alcanzaron valores de 1.547 cc y 1.373 cc en machos y hembras respectivamente. Esta acumulación de material nutritivo coincidió con las altas temperaturas del agua (22.8°C) y abundancia de alimento disponible en esa época del año.

#### Organismos experimentales

Machos.- El descenso de la temperatura de 18 C a 15 C

en el sistema A produjo en los machos una respuesta diferente a la que se obtuvo en los sistemas B y C en donde las temperaturas fueron más elevadas (20°C constantes en el primero y de 18°C a 21°C en el segundo) (Tabla IV y Figura 7).

Los volúmenes finales de GD en los tres sistemas fueron mayores que el volumen inicial (0.163 cc). Los incrementos de los sistemas A y B fueron significativos ( $P = 0.034$ ) con valores de 0.613 cc y 0.479 cc, respectivamente. El sistema C obtuvo un valor final no significativo de 0.360 cc. Con respecto al volumen de GD de los organismos del campo en septiembre (0.628 cc), al final del experimento, no se registraron diferencias significativas ( $P = 0.436$ ) al compararlo con los valores experimentales.

Los volúmenes finales de GM (Figura 7b) fueron más altos de manera muy significativa (0.001) en relación al volumen inicial (0.258 cc). En el sistema B el valor final fue de 1.597 cc y en el C de 1.283 cc; el incremento en el sistema A fue menor (0.810 cc). Al comparar estos resultados con el volumen del campo en septiembre (0.814 cc) no se registraron diferencias significativas ( $P = 0.073$ ).

Tabla IV.- Medias y desviaciones estandar de los volúmenes de los componentes celulares analizados en el experimento III. Las desviaciones estandar entre parentesis.

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----		
A	B	C	A-	B	C
GAMETAS EN DESARROLLO					
0.423 (0.12)	0.423 (0.12)	0.423 (0.12)	0.114 (0.12)	0.114 (0.12)	0.114 (0.12)
0.227 (0.18)	0.311 (0.15)	0.155 (0.08)	0.187 (0.10)	0.280 (0.15)	0.611 (0.49)
0.421 (0.17)	0.477 (0.10)	0.566 (0.21)	0.209 (0.07)	0.777 (0.33)	0.884 (0.53)
0.349 (0.18)	0.577 (0.08)	0.351 (0.20)	0.646 (0.20)	0.725 (0.22)	0.338 (0.18)
GAMETAS MADURAS					
0.725 (0.35)	0.725 (0.35)	0.725 (0.35)	0.056 (0.06)	0.056 (0.06)	0.056 (0.06)
0.731 (0.23)	1.110 (0.65)	1.100 (0.88)	0.126 (0.14)	0.286 (0.26)	0.406 (0.27)
1.430 (0.67)	1.449 (0.44)	2.403 (0.06)	0.164 (0.13)	0.786 (0.35)	0.711 (0.45)
1.616 (0.73)	2.014 (0.47)	0.781 (0.49)	0.717 (0.36)	0.911 (0.34)	0.182 (0.34)
CELULAS VESICULARES					
0.306 (0.17)	0.306 (0.17)	0.306 (0.17)	0.359 (0.34)	0.359 (0.34)	0.359 (0.34)
0.320 (0.13)	0.281 (0.23)	0.507 (0.48)	0.449 (0.15)	0.468 (0.25)	0.377 (0.30)
0.249 (0.10)	0.324 (0.12)	0.256 (0.15)	0.325 (0.16)	0.077 (0.06)	0.455 (0.27)
0.282 (0.15)	0.240 (0.10)	0.432 (0.15)	0.227 (0.09)	0.192 (0.16)	0.362 (0.14)
CELULAS ADIPOGRANULARES					
0.178 (0.18)	0.178 (0.18)	0.178 (0.18)	0.563 (0.26)	0.563 (0.26)	0.563 (0.26)
0.134 (0.09)	0.165 (0.22)	0.390 (0.66)	0.575 (0.36)	0.412 (0.24)	0.307 (0.32)
0.279 (0.24)	0.000 (0.00)	0.339 (0.48)	0.252 (0.00)	0.000 (0.00)	0.274 (0.29)
0.168 (0.23)	0.000 (0.00)	0.184 (0.16)	0.151 (0.00)	0.000 (0.00)	0.289 (0.25)

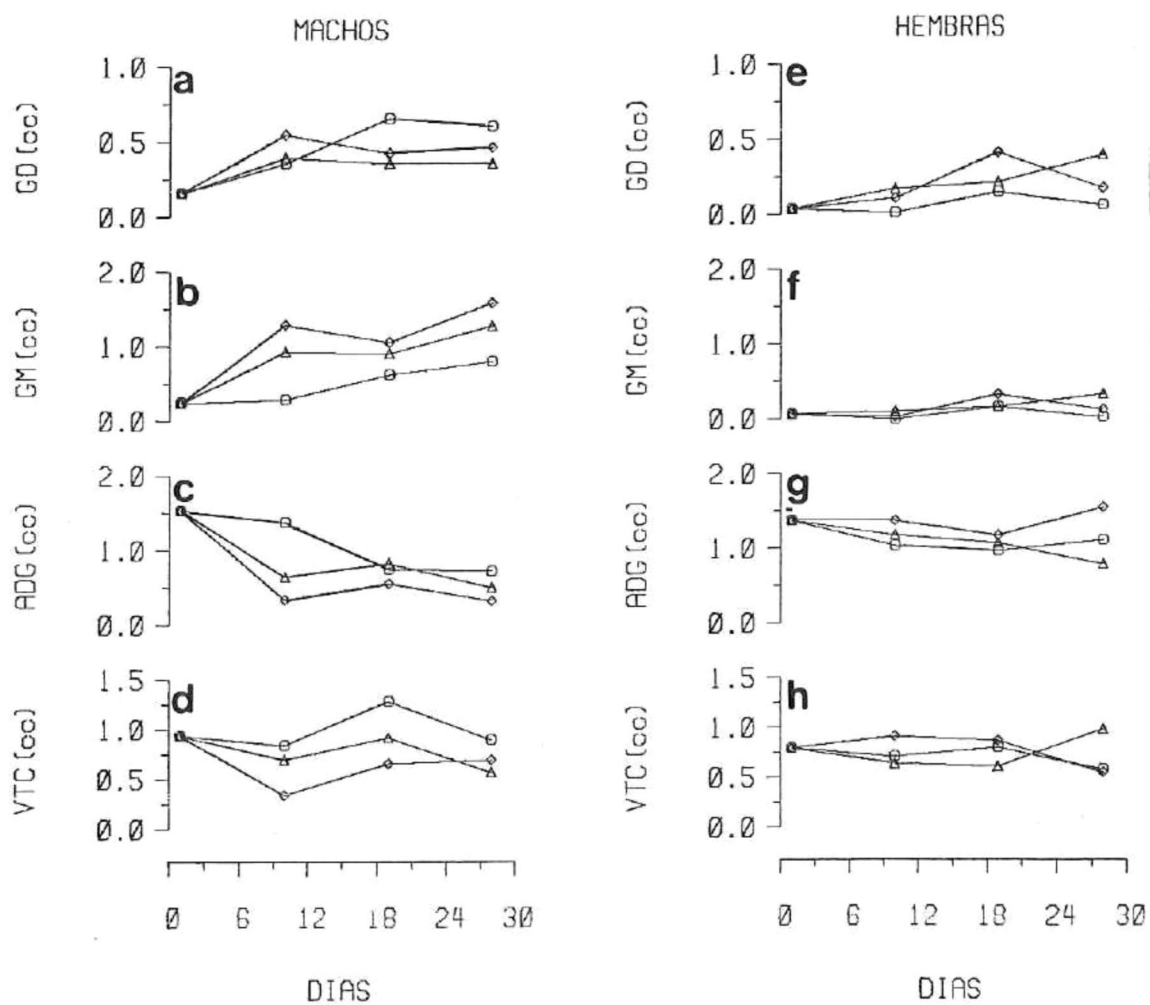


FIGURA 7. Experimento II. Medias de los volúmenes de los componentes de la gonada. a,c) GD, gametas en desarrollo; b,d) GM, gametas maduras; c,g) ADG, células adipogranulares; d,h) VTC, células adipogranulares.  $\circ$  Sistema A;  $\diamond$  Sistema B;  $\triangle$  Sistema C.

Se advierte la clara correspondencia entre la producción de GM y la disminución asociada de los volúmenes de células ADG en los tres sistemas (Figura 7c). Los volúmenes finales de estas células en los sistemas B y C (0.333 cc y 0.512 cc, respectivamente) representaron un decremento significativo ( $P = 0.029$ ) en relación al volumen inicial (1.547 cc), en tanto que el valor final de A (0.733 cc) no fue significativo. En septiembre, los organismos del campo registraron un volumen de células ADG de 1.166 cc, que fue significativamente mayor ( $P = 0.015$ ) que los volúmenes finales de los sistemas B y C.

Los volúmenes finales de las células VTC (Figura 7d) no mostraron variaciones con respecto al valor inicial ( $P = 0.425$ ) ni al valor registrado en el campo el mes de septiembre ( $P = 0.082$ ).

Hembras.- La producción de GD se incrementó en las hembras de los tres sistemas (Figura 7c). El ligero incremento registrado por el sistema A con un volumen final de 0.069 cc no fue significativo. En los sistemas B y C los valores finales que se obtuvieron (0.175 cc y 0.395 cc, respectivamente) sí representaron aumentos muy significativos ( $P = 0.007$ ) en relación al valor inicial (0.141 cc). Entre el volumen de los organismos del campo en septiembre (0.185 cc) y los que obtuvieron los sistemas

experimentales no se registraron diferencias significativas ( $P = 0.235$ ).

La producción de GM en las hembras fue muy baja (Figura 7f). Los volúmenes de los sistemas B y C (0.124 cc y 0.323 cc, respectivamente) aunque mayores que el valor inicial (0.067) no fueron significativos al compararlos con este último ni con respecto al valor de los organismos del medio natural en septiembre (0.491 cc) El sistema A obtuvo un valor muy bajo de 0.010 cc.

La utilización de las reservas de las células ADG en las hembras fue menor que en los machos (Figura 7g). Los volúmenes finales de los tres sistemas no variaron significativamente ( $P = 0.055$ ) en relación al valor inicial (1.373 cc); sin embargo al compararlos con el volumen de células ADG de los organismos del campo en septiembre (1.310 cc) se observó un decremento muy significativo ( $P = 0.005$ ) en los sistemas A y C (1.107 cc y 0.781 cc, respectivamente).

Las reservas de las células VTC (Figura 7h), permanecieron sin cambios significativos ( $P = 0.543$ ); el sistema B registró un incremento (0.987 cc) con respecto a los restantes sistemas y a los valores de los organismos del campo en agosto y septiembre.

### 3.2.2 INDICE GONADAL

Machos.- Los valores de los índices gonadales en este experimento no reflejaron los resultados del análisis estereológico y sus valores finales no registraron cambios significativos ( $P > 0.05$ ). Los porcentajes de IGH e IGS que obtuvieron los sistemas A y B fueron 33.89% y 49.98% en el primero y 39.82% y 53.31% en el segundo. El sistema C obtuvo porcentajes de IGH de 36.75% y 42.92% en el IGS (Tabla V y Figura 8).

Hembras.- Al igual que con los machos, los índices gonadales se comportaron de forma muy diferente a los resultados que se obtuvieron en estereología. No se registró ninguna variación significativa ( $P > 0.05$ ). El sistema A obtuvo 28.78% en el IGH y 44.41% en el IGS; en el mismo orden el sistema B alcanzó 36.80% y 47.93%. Los porcentajes en el sistema C fueron 32.68% y 51.90%, respectivamente.

Tabla V.- Medias y desviaciones estandar de los volúmenes de los componentes celulares analizados en el experimento IV. Las desviaciones estandar entre parentesis.

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----		
A	B	C	A	B	C
GAMETAS EN DESARROLLO					
0.105 (0.05)	0.105 (0.05)	0.105 (0.05)	0.023 (0.01)	0.023 (0.01)	0.023 (0.01)
0.210 (0.18)	0.191 (0.05)	0.360 (0.16)	0.160 (0.19)	0.102 (0.06)	0.096 (0.02)
0.344 (0.21)	0.294 (0.12)	0.215 (0.10)	0.088 (0.08)	0.253 (0.08)	0.135 (0.06)
0.386 (0.12)	0.291 (0.13)	0.282 (0.12)	0.319 (0.02)	0.285 (0.09)	0.295 (0.12)
GAMETAS MADURAS					
0.000 (0.00)	0.000 (0.00)	0.000 (0.00)	0.003 (0.00)	0.003 (0.00)	0.003 (0.00)
0.068 (0.04)	0.085 (0.05)	0.179 (0.08)	0.193 (0.30)	0.091 (0.12)	0.055 (0.02)
0.226 (0.16)	0.230 (0.09)	0.330 (0.25)	0.033 (0.04)	0.320 (0.23)	0.115 (0.01)
0.520 (0.26)	0.560 (0.11)	0.548 (0.15)	0.410 (0.13)	0.277 (0.11)	0.638 (0.46)
CELULAS VESICULARES					
0.023 (0.00)	0.023 (0.00)	0.023 (0.00)	0.032 (0.00)	0.032 (0.00)	0.032 (0.00)
0.087 (0.08)	0.085 (0.03)	0.136 (0.08)	0.037 (0.02)	0.052 (0.03)	0.051 (0.03)
0.141 (0.10)	0.103 (0.01)	0.117 (0.05)	0.029 (0.02)	0.082 (0.03)	0.030 (0.01)
0.163 (0.07)	0.172 (0.13)	0.158 (0.03)	0.078 (0.00)	0.128 (0.16)	0.126 (0.14)

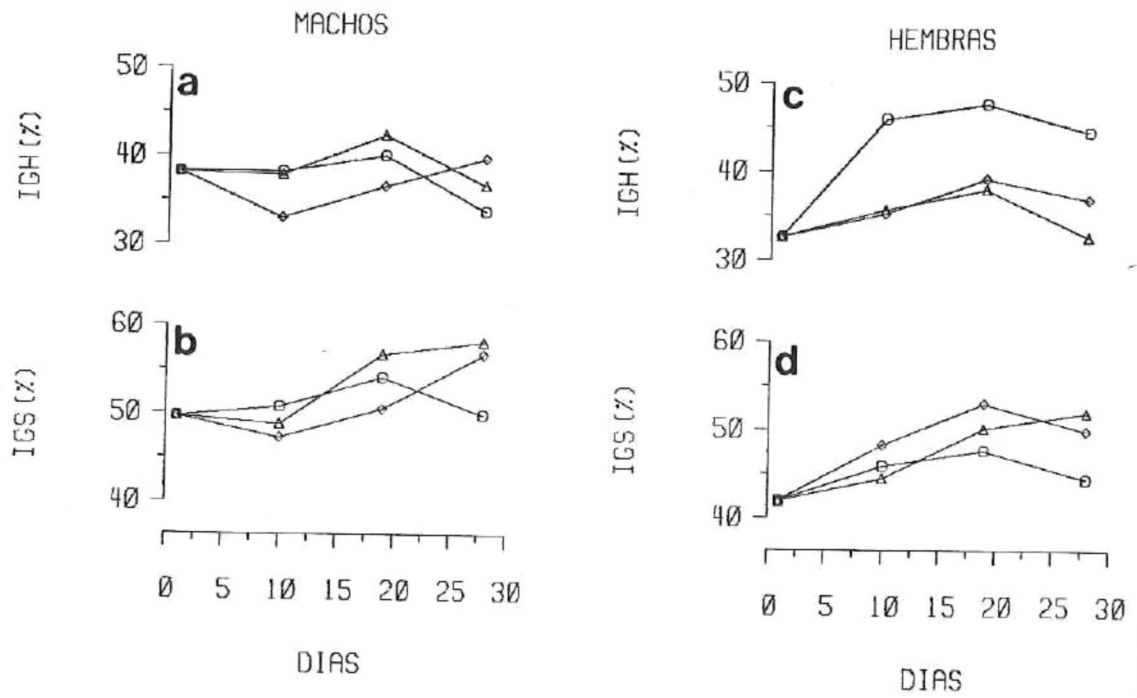


FIGURA 8. Experimento II. Medias de los Indices gonadales a,c) húmedo (IGH) y b,d) seco (IGS). ○ Sistema A; ◇ Sistema B; ▲ Sistema C.

### 3.3 EXPERIMENTO III

#### 3.3.1 CITOLOGIA CUANTITATIVA

En octubre, los machos y hembras del medio natural presentaron amplias diferencias en su condición reproductiva. (Fig.2). Los machos se encontraron en fase de maduración de gametas con un volumen de 0.725 cc asociada a una disminución de las células ADG (0.178 cc) y en menor medida de las células VTC.

A pesar de las diferencias en la condición reproductiva inicial, ambos sexos respondieron de manera análoga a los estímulos térmicos.

#### Organismos experimentales

Machos.- El descenso de temperatura del sistema B, estimuló la gametogénesis obteniendo un volumen final de GD de 0.577 cc significativamente mayor ( $P = 0.044$ ) que las restantes condiciones y que los valores del medio natural (Tabla VI y Figura 9).

Tabla VI.- Medias y desviaciones estándar de los índices gonadales húmedo y seco analizados en el experimento I.  
Las desviaciones estándar entre parentesis.

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----		
A	B	C	A	B	C
INDICE GONADAL HUMEDO (%)					
23.16 (2.84)	23.16 (2.84)	23.16 (2.84)	17.59 (4.20)	17.59 (4.20)	17.59 (4.20)
23.26 (2.34)	23.75 (3.45)	22.58 (5.87)	17.07 (4.88)	17.33 (4.55)	17.85 (4.50)
22.75 (2.61)	25.23 (3.75)	22.16 (3.37)	19.70 (4.42)	24.74 (7.08)	17.73 (4.54)
24.30 (2.37)	24.52 (7.39)	28.48 (4.84)	14.22 (2.89)	19.16 (3.48)	21.35 (4.89)
INDICE GONADAL SECO (%)					
25.73 (7.65)	25.73 (7.65)	25.73 (7.65)	20.86 (8.56)	20.86 (8.56)	20.86 (8.56)
27.71 (2.85)	29.66 (4.62)	30.53 (13.59)	26.05 (6.72)	26.18 (1.28)	25.95 (7.67)
30.16 (6.26)	35.05 (2.15)	27.98 (4.97)	28.08 (6.26)	36.36 (6.35)	23.67 (8.63)
34.77 (3.15)	32.90 (7.34)	36.95 (7.46)	22.15 (6.48)	27.89 (6.78)	29.77 (7.00)

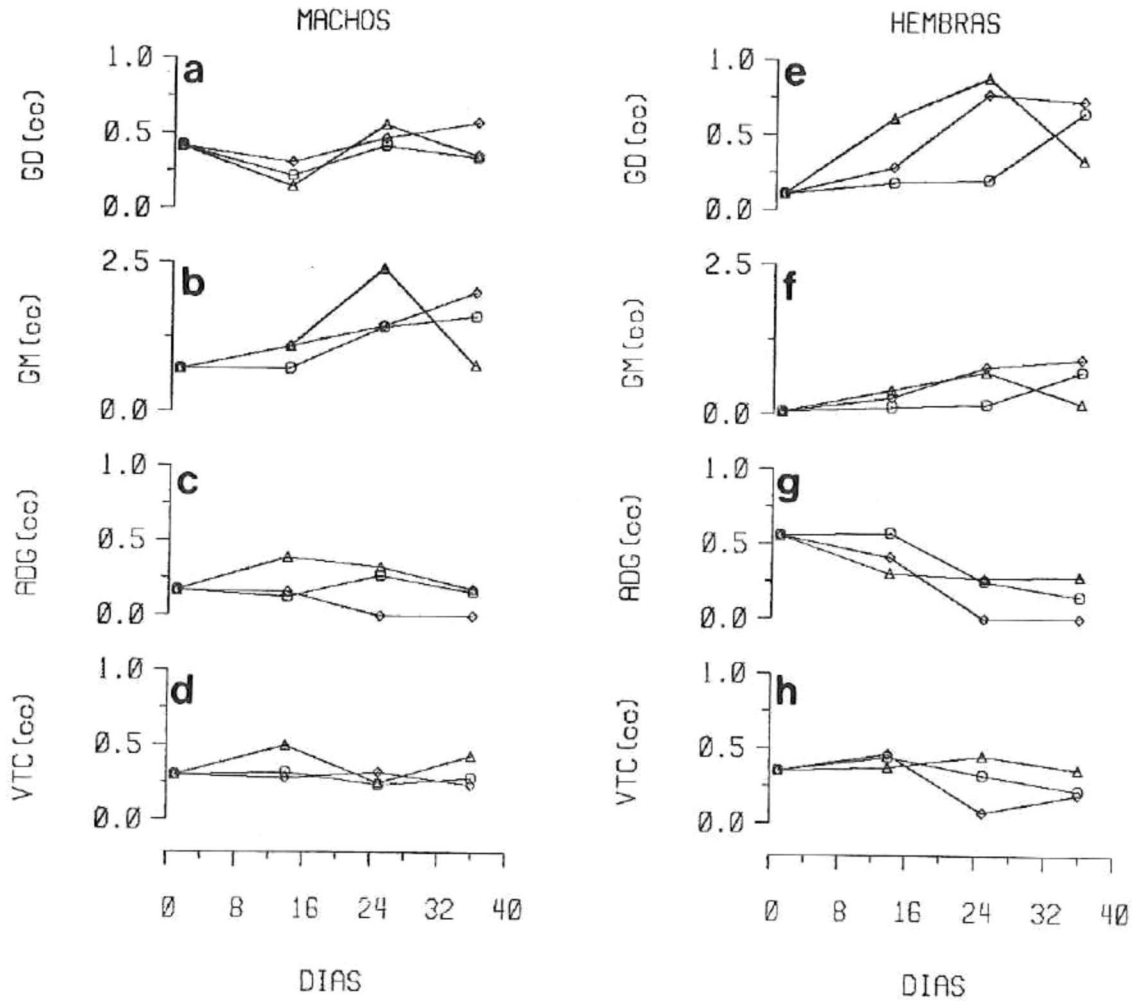


FIGURA 9. Experimento III. Medias de los volúmenes de los componentes de la gonada. a,c) GD, gametas en desarrollo; b,f) GM, gametas maduras; c,g) ADG, células adipogranulares; d,h) VTC, células vesiculares.  $\circ$  Sistema A;  $\diamond$  Sistema B;  $\triangle$  Sistema C.

La temperatura constante de 20°C del sistema A y el enfriamiento de 18°C a 15°C en el sistema B favorecieron la maduración de las gametas en los machos. El volumen final de GM del sistema A fue de 1.616 cc y en el sistema B fue de 2.014 cc resultando incrementos muy significativos ( $P = 0.005$ ), en relación al volumen inicial (0.725 cc) (Figura 9b).

El incremento de temperatura de 18°C a 21°C en el sistema C, ocasionó un rápido aumento en el volumen de GM y a los 25 días se alcanzó un valor máximo de 2.413 cc. Once días después, al proseguir el aumento de temperatura, se presentó, espontáneamente, un desove masivo que redujo de manera significativa ( $P = 0.046$ ) el volumen final de GM a 0.781 cc.

Los volúmenes de células ADG descendieron en los tres sistemas. En el sistema B se registró un decremento significativo ( $P = 0.045$ ) desde 0.178 cc a 0.000 cc a los 28 días. Los decrementos en los restantes sistemas no fueron significativas (Figura 9c).

En los machos, los volúmenes finales de células VTC permanecieron sin variación significativa ( $P = 0.406$ ), y sólo el sistema C registró un ligero aumento (0.432 cc) (Figura 9d).

Hembras.- La gametogénesis tuvo un progreso notable en las hembras de los tres sistemas; los volúmenes finales de GD de los sistemas A y B (0.646 cc y 0.725 cc, respectivamente) representaron incrementos de más de seis veces el volumen inicial (0.114 cc), que resultaron significativamente mayores ( $P = 0.004$ ) que este último y que el volumen final del sistema C (0.333). Este componente de la gonada reflejó claramente el desove de los organismos del sistema C, que obtuvo a los 25 días un valor máximo de 0.786 cc, y que se redujo significativamente ( $P = 0.016$ ) a 0.338 cc al final del experimento.

Los incrementos en los volúmenes de GM de los sistemas A y B (de 0.056 cc a 0.714 cc y 0.911 cc, respectivamente) fueron muy significativos ( $P = 0.004$ ) al compararlos con el volumen inicial que fue de 0.056 cc y con el volumen final del sistema C (0.182).

La utilización del material de reserva de las células ADG fue mayor en el sistema B, el cual registró un descenso significativo (de 0.536 cc a 0.00 cc con  $P = 0.008$ ) a los 36 días.

Los decrementos de células vesiculares que se registraron en los tres sistemas no fueron significativos ( $P = 0.406$ ).

### 3.3.2 INDICE GONADAL

Machos.-El sistema B obtiene el porcentajemás alto en ambos Indices: 40.91% en el IGH y 56.83% en el IGS. El desove masivo a los 24 dias del sistema C se aprecia claramente tanto en el IGH (29.08%) como en el IGS (39.22%). Los porcentajes finales de IGH e IGS en el sistema A fueron 35.09% y 48.65% respectivamente.

Hembras.- De la misma manera que los machos, las hembras reflejaron nitidamente los resultados de la estereologia de los tres sistemas experimentales. El sistema B logró los porcentajemás altos en ambos Indices, 40.18% en el IGH y 55.88% en el IGS. Asimismo es notorio y claro el desove del sistema C que obtuvo valores de 25.21% y 35.86 para el IGH e IGS, respectivamente. En el sistema A se obtuvieron 35.09% y 48.65% en el mismo orden. No se registraron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre los valores experimentales finales y los del medio natural (Tabla VII y Figura 10).

Tabla VII.- Medias y desviaciones estandar de los indices gonadales humedo y seco analizados en el experimento II: Las desviaciones estandar entre parentesis.

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----		
A	B	C	A	B	C
INDICE GONADAL HUMEDO (%)					
38.20 (4.83)	38.20 (4.83)	38.20 (4.83)	32.60 (6.52)	23.60 (6.52)	32.60 (6.52)
37.89 (4.67)	33.08 (0.71)	39.94 (4.41)	35.42 (4.59)	35.24 (5.34)	35.60 (2.52)
40.10 (9.86)	36.64 (7.68)	42.42 (3.36)	33.80 (5.13)	39.12 (6.62)	37.97 (3.87)
33.89 (6.22)	39.82 (3.82)	36.75 (1.84)	28.78 (11.22)	36.80 (2.19)	32.68 (5.78)
INDICE GONADAL SECO (%)					
49.72 (5.24)	49.72 (5.24)	49.72 (5.24)	41.95 (9.01)	41.95 (9.01)	41.95 (9.01)
50.88 (5.67)	47.38 (11.21)	48.75 (5.06)	45.91 (4.02)	48.27 (6.39)	44.53 (7.03)
54.19 (8.46)	50.55 (7.19)	56.70 (4.11)	47.62 (11.35)	52.96 (8.01)	50.18 (5.18)
49.98 (8.41)	53.31 (3.85)	58.10 (3.99)	44.41 (14.46)	47.92 (4.19)	51.19 (9.55)

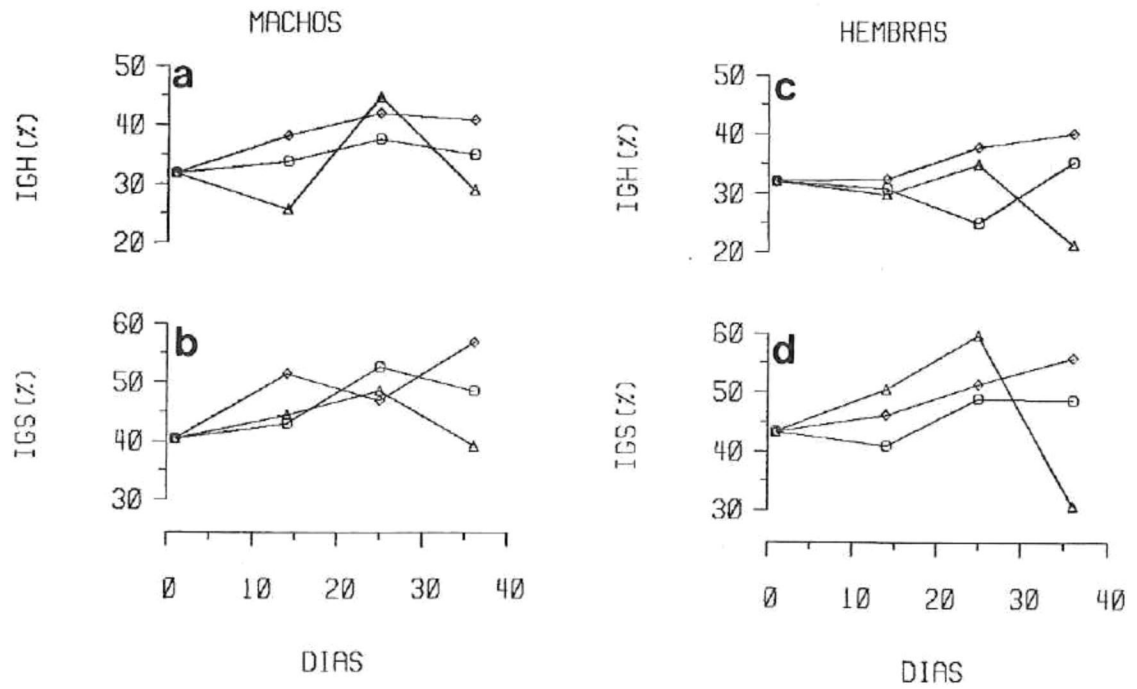


FIGURA 10. Experimento III. Medias de los Indices gonadales a,c) húmedo (IGH) y b,d) seco (IGS). ○ Sistema A; ◇ Sistema B; △ Sistema C.

### 3.3 EXPERIMENTO IV

#### 3.3.1 CITOLOGIA CUANTITATIVA

##### Organismos del campo

En el mes de diciembre, los organismos provenientes del medio natural se encontraban en estadio de desove total (Figura 3). Macroscópicamente la textura del manto era translúcida con tinte anaranjado. En algunos mejillones subsistieron pequeñas zonas con gametas maduras no emitidas o en vías de maduración, formando islotes anaranjados en las hembras y blanco cremoso en los machos. El análisis estereológico dió como resultado, en todos los componentes de la gonada, los valores mínimos registrados en 1986, y tanto hembras como machos presentaron una condición reproductiva similar.

##### Organismos experimentales

Machos.- Los volúmenes finales de GD se incrementaron de manera muy similar en los tres sistemas (0.410 cc, 0.277 cc y 0.638 cc para A, B y C respectivamente) (Tabla VIII y Figura 11). Estos incrementos resultaron muy significativos ( $P = 0.003$ ) en comparación con el valor inicial (0.105 cc).

Tabla VIII.- Medias y desviaciones estandar de los indices gonadales humedo y seco analizados en el experimento III. Las desviaciones estandar entre parentesis

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----	
A	B	C	A	B
INDICE GONADAL HUMEDO (%)				
31.93 (5.83)	31.93 (5.83)	31.93 (5.83)	32.02 (6.84)	32.02 (6.84)
33.83 (5.71)	38.24 (6.89)	25.74 (10.82)	30.78 (4.07)	32.48 (5.03)
37.62 (8.11)	42.02 (2.20)	44.76 (0.76)	24.98 (10.23)	37.80 (6.27)
35.09 (8.93)	40.91 (5.66)	29.08 (8.95)	35.15 (7.38)	40.18 (3.74)
INDICE GONADAL SECO (%)				
40.40 (8.11)	40.40 (8.11)	40.40 (6.62)	43.44 (9.52)	43.44 (9.52)
43.10 (10.03)	51.56 (6.62)	44.52 (14.19)	40.92 (5.22)	46.23 (9.62)
52.70 (4.41)	47.02 (12.87)	48.51 (0.31)	48.98 (8.47)	51.45 (7.74)
48.65 (9.07)	56.83 (8.63)	39.22 (13.98)	48.62 (9.25)	55.88 (5.16)

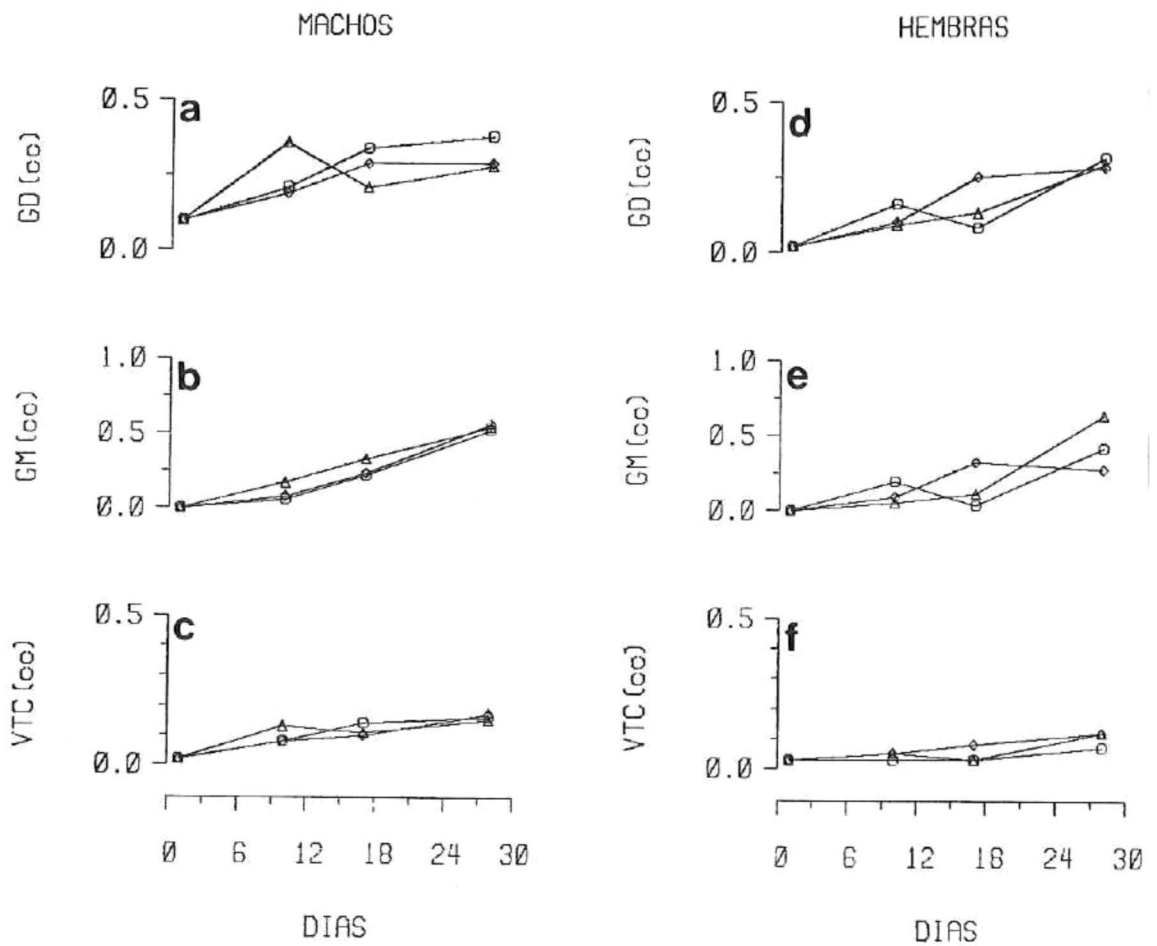


FIGURA 11. Experimento IV. Medias de los volúmenes de los componentes de la gonada. a,c) GD, gametas en desarrollo; b,f) GM, gametas maduras; c,g) VTC, células vesiculares. O Sistema A;  $\diamond$  Sistema B;  $\triangle$  Sistema C.

En cambio no se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.55$ ) con el volumen de los organismos del campo en enero (0.347 cc). El aumento de temperatura en el sistema C dió como resultado a los diez días un incremento (0.360 cc) altamente significativo ( $P = 0.001$ ) con respecto al volumen inicial. Al continuar el aumento de temperatura el volumen descendió a 0.295 cc.

Los volúmenes finales de GM de los tres sistemas alcanzaron valores prácticamente idénticos (0.520 cc, 0.560 cc y 0.548 cc para A, B y C respectivamente). Sin embargo, aunque estos aumentos resultaron muy significativos ( $P = 0.001$ ) en comparación con el valor inicial (0.000 cc) no lo fueron en relación a enero, ya que los organismos del campo presentaron un volumen de 0.971 cc.

Las tres condiciones experimentales dieron como resultado incrementos análogos en los volúmenes finales de las células VTC (0.163 cc, 0.172 cc y 0.158 cc, respectivamente). Estos incrementos resultaron muy significativos ( $P = 0.001$ ) en comparación con el volumen inicial (0.023 cc) y con el volumen de células vesiculares que obtuvieron los organismos del campo en enero (0.078 cc).

Hembras.- Las respuestas de las hembras a las tres condiciones experimentales fueron muy similares (Figura 11d). Se registraron incrementos significativos ( $P = 0.014$ ) en los volúmenes finales de GD de los tres sistemas (0.319 cc, 0.285 cc y 0.295 cc para A, B y C respectivamente) en relación al volumen inicial (0.023 cc). Aunque los valores experimentales fueron mayores que los obtenidos por los organismos del campo en enero (0.179 cc) las diferencias no fueron significativas ( $P = 0.273$ ).

Los volúmenes finales de GM en los tres sistemas aumentaron significativamente ( $P = 0.003$ ) en relación al valor inicial que fue de 0.004 cc. En el sistema C la producción de GM aumentó seis veces hasta alcanzar un volumen final de 0.638 cc, en tanto que A y B también lograron aumentos considerables (0.410 cc y 0.277 cc). El volumen de los organismos del campo en enero fue de 0.163 cc y no mostró diferencias significativas en relación a los resultados experimentales.

La acumulación de reservas en las células VTC se incrementó ligeramente en los tres sistemas experimentales, aunque estos aumentos no fueron significativos ( $P = 0.317$ ).

### 3.4.2 INDICE GONADAL

Machos.- El IGH final de los machos de este experimento fue muy similar en los tres sistemas (27.63%, 27.24% y 27.65% para A, B y C respectivamente) y los tres fueron significativamente mayores ( $P = 0.05$ ) que el volumen inicial (Tabla IX y Figura 12). Los valores de IGS (36.20% 36.12% y 36.93%, en el mismo orden) también muestran el incremento, pero no fueron significativos ( $P > 0.05$ ). Resulta clara la semejanza de la Figura 12 con los resultados de la estereología de estos organismos (Figura 11).

Hembras.- En las hembras, los porcentajes finales de ambos índices que se alcanzaron en los tres sistemas fueron similares y significativamente mayores ( $P = 0.05$ ) que el valor inicial. Los porcentajes de IGH fueron: 25.51% en el sistema A, 23.45% en el sistema B y 29.06% en el sistema C. El IGS final en los tres sistemas fue: 35.23%, 35.20% y 42.34% en los sistemas A, B y C respectivamente. También se observó similitud entre los comportamientos de las gráficas de los índices gonadales (Figura 12) y las de los análisis estereológicos (Figura 11).

Tabla IX.- Medias y desviaciones estandar de los indices gonadales humedo y seco analizados en el experimento IV. Las desviaciones estandar entre parentesis.

----- MACHOS -----			----- HEMBRAS -----		
A	B	C	A	B	C
INDICE GONADAL HUMEDO (%)					
14.84 (3.70)	14.80 (3.70)	14.80 (3.70)	13.25 (4.15)	13.25 (4.15)	13.25 (4.15)
16.17 (5.95)	18.46 (2.97)	25.30 (9.55)	16.53 (8.99)	15.28 (5.51)	14.69 (1.29)
23.58 (7.33)	22.45 (3.36)	23.10 (6.92)	14.51 (6.44)	23.84 (6.90)	15.64 (1.87)
27.63 (5.99)	27.24 (3.30)	25.65 (5.82)	25.51 (7.44)	23.45 (5.36)	29.06 (7.50)
INDICE GONADAL SECO (%)					
16.65 (2.70)	16.65 (2.70)	16.65 (2.70)	18.07 (7.93)	18.07 (7.93)	18.07 (7.49)
25.07 (8.09)	25.58 (3.59)	34.12 (13.01)	28.88 (13.54)	22.34 (7.49)	22.73 (4.55)
30.89 (8.79)	40.15 (12.20)	35.50 (8.49)	20.72 (9.12)	38.40 (13.61)	27.00 (2.15)
36.20 (9.18)	36.12 (4.12)	36.93 (6.15)	35.23 (6.38)	35.20 (7.76)	42.34 (11.23)

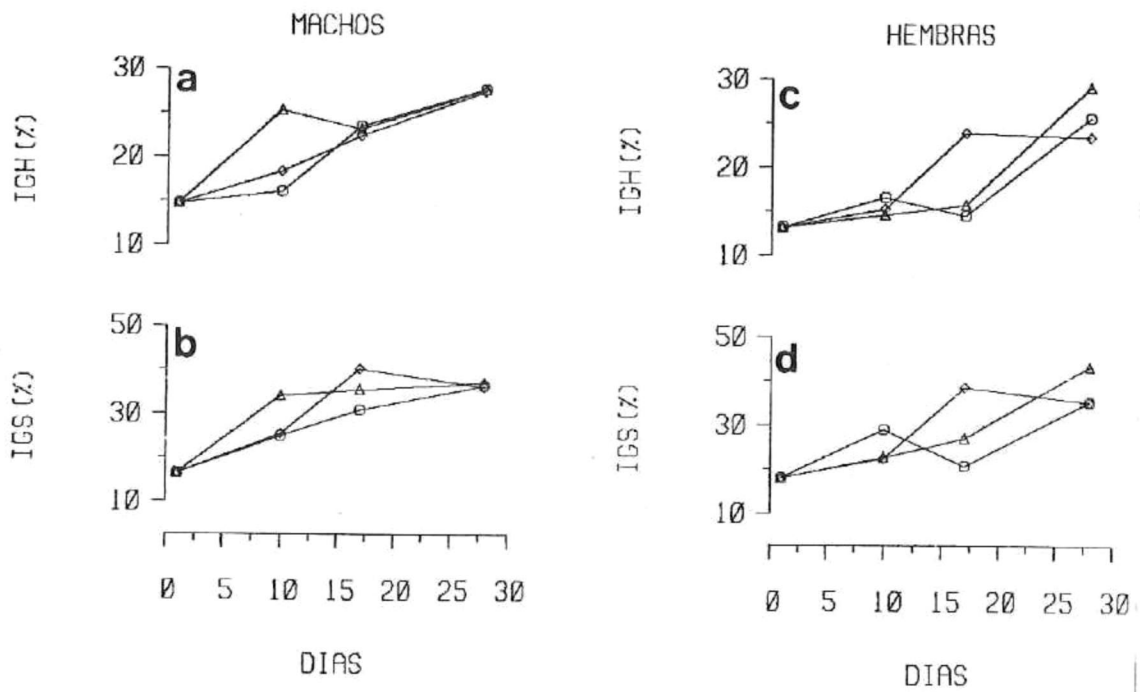


FIGURA 12. Experimento IV. Medias de los Indices gonadales a,c) húmedo (IGH) y b,f) seco (IGS). ○ Sistema A; ◇ Sistema B; △ Sistema C.

#### 4. DISCUSION

Al analizar las condiciones necesarias para la obtención de gametas en estado óptimo de desarrollo, varios autores (Bayne, 1976; Lannan, 1980 y Pipe, 1985) coinciden en señalar que estas se encuentran en estrecha dependencia de la temperatura, del estado fisiológico y de la etapa del ciclo reproductivo alcanzada por los organismos en el momento de iniciar el acondicionamiento.

En el experimento I, los organismos del campo mostraron una baja condición reproductiva e incipiente acumulación de reservas. El bajo potencial de crecimiento que se halló en estos organismos (Sosa-Medina, en preparación) indica el estrés fisiológico en que se encontraban. Según el patrón metabólico estacional propuesto por Bayne y Thompson (1970) estas características reproductivas y fisiológicas corresponden a organismos recién desovados. En los estudios que sobre Integración fisiológica han hechos Bayne et al, (1986) se establece que el potencial de crecimiento es positivo cuando existe un excedente de energía para el crecimiento y la reproducción y negativo cuando el organismo esta estresado lo que hace necesaria la utilización de las reservas corporales.

En los machos de este experimento, la elevación

paulatina de la temperatura de 14<sup>o</sup> a 22<sup>o</sup>C en los sistemas A (23 días) y B (44 días) y a la ración alimenticia (0.599 mg de peso seco de microalga/l) condujeron a la recuperación fisiológica de estos organismos y a una aceleración del proceso reproductivo que se reflejó en los altos volúmenes finales de GM que obtuvieron (0.674 cc y 0.806 cc, respectivamente). La elevada producción de gametas en organismos recién desovados y sin reservas nutritivas se explica por las características de la etapa de restauración del ciclo gametogénico de M. edulis y que le dan la posibilidad de desovar varias veces en el curso de un mismo ciclo anual (Lubet, 1959). La etapa de restauración, según la clasificación del ciclo reproductivo que establece Lubet (op cit), es el periodo entre dos emisiones de gametas sucesivas; el autor señala, que una vez terminado el desove, subsisten en la zonas distales de los folículos estructuras germinales que son las responsables de nuevos procesos gametogénicos. La presencia de estas estructuras, junto con una cantidad de nutrientes mínima, son los requerimientos que señalan Bayne (1965) y Sastry (1963) para el éxito de las técnicas de acondicionamiento en adultos. Aunque los volúmenes de las células de reserva de los experimentos I y IV (Figuras 5c,f;11c,f) fueron bajos, la producción de GM que obtuvieron nos permite suponer que las necesidades energéticas, generadas por la gametogénesis, se vieron satisfechas con la cantidad de

alimento administrada en los experimentos. La aceleración de los procesos gametogénicos por elevación paulatina de la temperatura en mejillones en la etapa de restauración, concuerda con los resultados obtenidos por Lubet (1959) en condiciones experimentales similares.

El sistema C con un periodo de incremento de temperatura más largo (65 días) produjo en los machos, un menor volumen de gametas. Estos organismos no se recuperaron fisiológicamente de la misma manera en que lo hicieron los mejillones de los sistemas A y B. Esto coincide con lo que señala Bayne (1976) respecto a una posible correlación entre el la duración del periodo de acondicionamiento y la pérdida de condición corporal.

A lo largo de los cuatro experimentos, los volúmenes de células VTC se mantuvieron estables (Figuras 5c,f;7d,h;9d,h;5c,f) lo que indica una conservación corporal del glucógeno. Este resultado no va de acuerdo con las disminuciones de este componente (sincrónicas con la gametogénesis) que reportan varios autores, tanto en el medio natural (Gabbott, 1975) como en el laboratorio (Bayne et al,1982; Lowe et al,1982). Si consideramos que la energía proporcionada por el material de reserva corporal, esta en función de la cantidad de alimento presente en el medio (Gabbott y Bayne, 1973), la estabilidad experimental

en los niveles de glucógeno, representada por los volúmenes de células VTC, pudiera indicar que los mejillones asimilaron adecuadamente la ración de alimento administrada por lo que no fue necesaria la utilización de las reservas de glucógeno almacenadas en el tejido del manto. Aunado a esto tenemos que hacia el final del experimento los organismos se mostraron en fase de recuperación con mejoría de la condición fisiológica (Sosa-Medina, en preparación).

La disminución de los volúmenes de las células ADG de los experimentos II y III (Figuras 7c,g;9c,g) fue concomitante con la producción de GM que registraron esos organismos y son similares a los reportados por Bayne et al, (1982) y Lowe et al, (1982) en experimentos con M. edulis. Dichos decrementos se presentan porque en la etapa de restauración de la gonada, las células ADG evacúan los productos acumulados (lípidos, proteínas y glucógeno) a través de mecanismos complejos tales como: exocitosis, autofagia total o parcial y lisis total (Lubet,1980) y los canalizan a las gametas, según han demostrado Houteville (1974) y Mathieu (1979), (citados por Lowe et al, 1982) en mejillones de las costas de Francia. La acumulación de lípidos en el huevo ofrece dos ventajas: es una fuente de energía más concentrada y su baja densidad facilita la flotabilidad (Gabbott, 1975).

En el medio natural, el inicio de la gametogénesis en M. edulis, tiene cabida cuando se ha completado el ciclo bioquímico de acumulación de reservas y comienza a descender la temperatura (Seed, 1976). En el experimento II (agosto) los organismos presentaban altos volúmenes de células de reserva con un elevado potencial de crecimiento (Sosa-Medina, op cit). El descenso de la temperatura del sistema A (20°C a 15°C) produjo en los machos un volumen de GD significativamente mayor que en los sistemas restante. Probablemente este incremento aparente en la tasa gametogénica signifique que el descenso de temperatura detuvo la gametogénesis en estos organismos, haciendo que permanecieran mas tiempo con las gametas en desarrollo, sin alcanzar la maduración. De ahí los bajos volúmenes de GM que presentó este sistema. La alta tasa de respiración registrada (la más alta de los cuatro experimentos) se debió al incremento de la temperatura y al gran costo energético que supone el proceso de la gametogénesis. El incremento en la tasa metabólica, hace que la energía que debiera usarse en la reproducción sea canalizada a subsanar el alto costo metabólico ocasionado por la elevada tasa de respiración (Bayne et al, 1982).

En las hembras de los tres sistemas hubo cierto desarrollo gametogénico pero a diferencia de los machos éste fue mayor en los sistemas de alta temperatura que en

el de enfriamiento (Figura 7f). No obstante que mostraron reservas nutritivas, los volúmenes de GM fueron relativamente bajos, probablemente debido a un proceso de reabsorción de las gametas evidenciado por la presencia de hemocitos (Bayne, 1976). La degeneración y reabsorción de los oocitos es un fenómeno observado comunmente en M. edulis, pudiendo ser causado por condiciones ambientales como: la temperatura, la desecación, y bajos niveles de nutrición (Pipe, 1987). Es probable que las altas temperaturas experimentadas por los organismos del medio natural (22.8°C) hayan provocado este fenómeno, que aunque se redujo en cierta medida durante el período experimental, no permitió la obtención de gametas maduras.

Es interesante resaltar las diferencias en las respuestas entre los sexos. En todos los experimentos (Figs.3,5,7 y 9), los volúmenes finales de GM en los machos fueron significativamente mayores ( $P < 0.05$ ) que en las hembras; la misma situación se repitió con los volúmenes de GD, salvo en las hembras del Experimento III. Esta producción de gametas más alta en los machos que en las hembras ha sido reportada por diversos autores. En un estudio del ciclo gametogénico de M. edulis en las costas de California, Moore y Reish (1969) encuentran que la gametogénesis en los machos se encuentra siempre en etapas más avanzadas y por períodos más largos que en las hembras.

Para esta misma especie, en las costas del este de Estados Unidos, Newell et al. (1982) cuantificaron las fracciones volumétricas de gametas en machos y hembras de esa región y encontraron que durante la época de maduración los volúmenes en los machos fueron significativamente mayores. A este respecto, Lubet (1980) establece que, al interior de una misma especie las hembras requieren de un mayor aporte energético que los machos, debido a la gran cantidad de energía que tienen que canalizar hacia el huevo para proveerlo de material suficiente para el desarrollo embrionario y larval. En las hembras del experimento III se obtuvieron los volúmenes de GD y GM más altos de las hembras de los cuatro experimentos (Figura 9e,f) lo que se explica por el elevado potencial de crecimiento que tenían (el más alto del año) y la gran cantidad de reservas acumuladas, material que permitió satisfacer la demanda energética de la gametogénesis.

Los índices gonadales húmedo y seco determinados para las condiciones experimentales en las cuatro épocas del año, aunque compartieron ciertas tendencias con los análisis estereológicos, en general no reflejaron de manera clara la condición reproductiva de los organismos sujetos al acondicionamiento (Figs.4,6,8 y 10). Sin embargo el uso de estos índices sigue teniendo validez pues ofrecen un panorama general del estado de desarrollo gonadal del

organismo y su obtención no representa un gasto excesivo. Glese y Pearse (1974) destacan la importancia de utilizar las mediciones del índice gonadal en combinación con los análisis cuantitativos histológicos para obtener una estimación precisa de los cambios reproductivos en una población.

En trabajos de acondicionamiento con adultos de Crassostrea gigas, Lannan (1980) enfatiza la necesidad del conocimiento del estado de desarrollo gonadal en el momento en el que se inicia el acondicionamiento y la tasa de gametogénesis durante el intervalo de acondicionamiento. Asimismo demuestra que existe una etapa óptima de desarrollo, en la que la proporción de gametas viables está en un máximo. Para establecer dicha etapa es indispensable: el conocimiento del ciclo anual del organismo en la región de cultivo, la determinación del método de acondicionamiento, con la temperatura como principal variable y la determinación empírica de la etapa de acondicionamiento óptima durante las diferentes estaciones del año.

El seguimiento del ciclo gonadal del mejillón de esta región, desde 1985 junto con el trabajo de Sosa-Medina (en preparación) nos permiten observar las diferencias fundamentales en el balance de energía de los cuatro

experimentos. Al agruparlos en relación a la condición gametogénica y fisiológica inicial, se tienen por un lado los experimentos I y IV en estado de estrés y sin reservas nutritivas en el manto, por otro los experimentos II y III, con elevado potencial de crecimiento y altos volúmenes de células de reserva. En todos los experimentos a excepción de las hembras del experimento I, se logró acelerar la gametogénesis y la producción de gametas, aunque al comparar con los organismos del campo los incrementos no fueron significativos en ningún caso.

Por los resultados obtenidos en este trabajo, podemos afirmar que las condiciones experimentales fueron las adecuadas para reestablecer el equilibrio metabólico en los organismos que se encontraron en estrés fisiológico al inicio del período experimental (experimento I y IV); además se dispuso de energía para la producción somática y gonadal. Cuando los organismos se encontraron en condiciones normales la respuesta dependió de la etapa reproductiva en la que se iniciaron los experimentos. En la etapa de restauración de la gonada en la que se encontraron los mejillones del experimento IV, la gametogénesis se inició con el descenso de la temperatura. Las etapas de oogénesis y vitelogénesis (experimentos I y III) se vieron aceleradas por los incrementos paulatinos de la temperatura superiores a los del medio natural.

La producción de gametas en el experimento III alcanzó los volúmenes más altos de los cuatro experimentos. Debido al ciclo de emisiones parciales de gametas que posee M. edulis emisiones que se van haciendo sucesivamente más débiles (Lubet, 1959), la extracción de los mejillones en esta etapa de desarrollo, i e, cuando se termina la acumulación de reservas y se inicia la gametogénesis, asegurarla los primeros desoves que son los mas intensos y la etapa de restauración de la gónada podría ser acelerada hasta lograr nuevos desoves.

Los sustanciales incrementos en los volúmenes de GM de ambos sexos en el experimento IV, permiten considerar que la etapa de restauración de la gónada es un momento apropiado para colectar organismos e iniciar el acondicionamiento. Sin embargo no se podrían esperar los volúmenes que caracterizaron el experimento precedente, y para obtener una cantidad considerable de gametas bastaría con aumentar el número de mejillones para acondicionar. Sin embargo, con el objetivo de mantener progenitores maduros la mayor parte del año se hace necesario continuar estos experimentos combinandolos con etapas de mantenimiento de las gametas maduras a bajas temperaturas. Bayne (1965) ha realizado exitosamente esta técnica, manteniendo adultos de M. edulis a 5°C por debajo de la temperatura ambiente y con una ración alimenticia adecuada,

durante 12 meses sin que hubiera reabsorción de la gonada.

Un factor de suma importancia en la evaluación del éxito de una técnica de acondicionamiento de progenitores para la producción de gametas es la garantía de viabilidad y óptimo desarrollo larval posterior. Existen varios trabajos que muestran la estrecha relación entre la condición fisiológica del adulto y la viabilidad y tasa de crecimiento de las larvas que producen. Bayne (1972) encuentra que los adultos de M. edulis sometidos a altas temperaturas y ración alimenticia reducida liberaron huevos con un desarrollo embrionario anormal. Bajo similares condiciones de estrés, Bayne et al, (1978) reportan una disminución en el número de huevos emitidos, con pesos menores y menor cantidad de lípidos en comparación con los huevos procedentes de adultos normales. Los diversos grados de estrés que presentaron los organismos de los trabajos mencionados se evaluaron por medio del índice de potencial de crecimiento que en todos los casos fue negativo.

Aunque evaluar la viabilidad de las gametas estaba fuera del objetivo del presente trabajo las mediciones efectuadas por Sosa-Medina (en preparación) permiten un acercamiento a este problema. Los índices de potencial de crecimiento que se registraron en los experimentos

resultaron positivos, lo que indica el restablecimiento del equilibrio metabólico en los organismos y la disponibilidad de energía para la producción somática y gonadal. Tomando en consideración que los porcentajes de viabilidad de las gametas y adecuado desarrollo larval son mayores en los organismos mantenidos bajo condiciones normales que los que sufrieron de estrés (Bayne et al, 1975) y que las condiciones experimentales del presente trabajo fueron adecuadas, podemos suponer que las gametas producidas por los mejillones tenían grandes probabilidades de ser viables y alcanzar un desarrollo larval normal.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La administración de la ración alimenticia equivalente al 3.4% del peso seco del tejido blando de Mytilus edulis cubrió completamente sus requerimientos energéticos y permitió la disponibilidad de energía para el crecimiento somático y gonadal.

La producción de gametas maduras fue mayor en los machos que en las hembras.

En este trabajo, se encontró que la producción de gametas dependió de la etapa gametogénica en la que se encontraron los organismos al inicio de estímulo mas que de los regímenes térmicos aplicados. Sin embargo la tasa gametogénica se vió acelerada por las altas temperaturas.

Las etapas del ciclo gametogénico mas adecuadas para el inicio de un acondicionamiento con el fin de obtener gametas maduras son: cuando el organismo ha completado el ciclo de acumulación de reservas y la gametogénesis es incipiente y durante la etapa de restauración de la gonada.

Con el fin de obtener gametas maduras durante la mayor parte del año, se recomienda que una vez concluidos los

experimentos de acondicionamiento de progenitores, se determine la temperatura baja adecuada para el mantenimiento de organismos maduros de modo que se retarde la liberación de las gametas y se evite la reabsorción de la gonada.

Para evaluar el éxito del método de acondicionamiento se recomienda la realización de bioensayos de fertilización con las gametas liberadas, en los que se estudie el crecimiento y el desarrollo larval por lo menos hasta el estadio de charnela recta.

## 6. LITERATURA CITADA

- Bayne, B.L. 1965. Growth and delay of metamorphosis of the larvae of Mytilus edulis L. *Ophelia*. 2:1-47.
- Bayne, B.L. 1975. Reproduction in bivalve molluscs under environmental stress. In: *Physiological Ecology of Estuarine Organisms*. F.J. Venberg (ed). University of South Carolina Press. Columbia, South Carolina. pp 256-277.
- Bayne, B.L. 1976a. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: *Estuarine Processes*. Vol 1. Martin Willey (ed) Academic Press. pp 432-448.
- Bayne, B.L. 1976b. *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology*. Cambridge University Press. U.K.
- Bayne, B.L., 1985. *Effects of Stress and Pollution in Marine Animals*. Praeger Press. New York.
- Bayne, B.L. and R. J., Thompson (1970). Some physiological consequences of keeping Mytilus edulis in the laboratory. *Helgolander wiss. Meeresunters* 20:526-552.
- Bayne, B.L. and J. Widdows. 1978. The physiological ecology of two populations of Mytilus edulis L. *Oecologia* 37:137-162.
- Bayne, B.L., P.A. Gabbott and J. Widdows. 1975. Some effects of stress in the adult on the eggs and larvae of Mytilus edulisL. *J. of mar. biol. Ass. UK*. 55:675-689.
- Bayne, B.L., D.L. Holland, M.N. Moore, D.M. Lowe, and J. Widdows. 1978 Further studies on the effect of the stress in the adult on the eggs of Mytilus edulis L. *J Mar Biol Ass UK* 30(4):825-841
- Bayne, B.L., A. Bubel, P.A. Gabbott, D.R. Livingston, D.M. Lowe and M.N. Moore. 1982. Glycogen utilisation and gametogenesis in Mytilus edulis L. *Marine Biology Letters*.

89-105

Chi-Barragán (en preparación) Ciclo reproductivo de Mytilus edulis en Baja California. IIO-UABC

Chipperfield, P.N.J., 1953. Observations on the breeding and settlement of Mytilus edulis (L) in british waters. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 32:449-476.

Elias, H., A. Henning, and D. E. Schwartz. 1971. Stereology: application to biomedical research. Physiological Reviews. 51:158-200.

Gabbott, P.A., B.L. Bayne. 1973. Biochemical effects of temperature and nutritive stress on Mytilus edulis L. J. mar. bio. Ass. U.K. 53:269-286

Gabbott, P.A. 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs. A hipotesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In: Proceedings of the Ninth European Marine Biology Simposium, Oban, Scotland, 1974. (ed H. Barnes) pp 191-211

Gabbott, P.A. 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. In: Hochachka P. (ed). The Mollusca. Vol 2 Academic Press. New York.

Giese, A.C., J.S. Pearse. 1974. Introduction: General Principles In: Reproduction of Marine Invertebrates. Vol. 1. Acoelomate and Pseudocoelomate Metazoans. A.C.Giese and J.S. Pearse (eds) pp 1-49. Academic Press. New York.

Gimazane, J.P. 1972. Etude expérimentale de l'action de quelques facteurs externes sur la reprise de l'activité génitale de la Coque Cerastodema edule L. Mollusque bivalve. C. r. Séanc. Soc. Biol. 166:587-589

Griffiths, R. J., 1977. Reproductive cycles in littoral populations of Choromytilus meridionalis (Kr) and Aulacomya ater (Molina) with a quantitative assesment of gamete production in the former. Journal of Experimental Biology and Ecology. Vol 30:53-76.

- Humason, G.L., 1979. Animal Tissue Techniques. Fourth Edition. W.H. Freeman and Company. San Francisco. 661 pp.
- Hrs-Brenko, A. 1973. The study of mussel larvae and their settlement in Vela Draga Bay (Pula, The northern Adriatic Sea). Aquaculture 2:173-182.
110. (1982) IV Avance del programa "Estudios para el desarrollo del cultivo comercial de los mejillones Mytilus californianus y M. edulis en las costas de Baja California. UABC-110-SEP. TOMO II.
- Joyner T. y J. Spinelli. 1969. Mussels: a potential source of high protein. Comercial Fisheries Review. 31(8):21-35.
- Lannan J.E., A. Robinson, and W.P. Breese. 1980. Broodstock management of Crasostrea gigas II Broodstock conditioning to maximize larval survival. Aquaculture 21:337-356.
- Loosanoff, V.L. y H.C. Davis. 1951. Delaying spawning of lamellibranchs by low temperature. J. mar. Res. 10:197-202
- Loosanoff, V. L., C. A. Nomejko. 1951. Existence of physiologically different races of oysters Crasostrea virginica. Biological Bulletin 101:151-156.
- Loosanoff, V.L. and H. C. Davis. 1963. Rearing of bivalve molluscs In: Advances of Marine Biology. Academic Press. London.
- Lowe, D.M., M.N. Moore, and B.L. Bayne. 1982. Aspects of gametogenesis in the marine mussel Mytilus edulis L. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 62 (1):133-145.
- Lubet, P. 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les mytilides et les pectinides. (Mollusques bivalves). Rev. Trav. Inst. Pêches Marit. 23:389-548.

- Lubet, P. 1980. Influence des facteurs externes sur la reproduction des mollusques lamellibranches. *Oceanis* 6:469-491.
- Lubet, P. and M. Mathieu. 1982. The action of internal factors on gametogenesis in Pelecypod Molluscs. *Malacologia* 22(1-2):131-136.
- Moore, D.R. y D.J. Reish. 1969. Studies on the Mytilus edulis community in Alamitos Bay, California. IV. Seasonal variations in gametes from different regions in the bay. *The Velliger*. Vol II No.3:250-255
- Newell, R.I., T.J. Kilbush, R.K. Kohen, C.J. Newell. 1982. Temporal variations in the reproductive cycle of Mytilus edulis (Bivalvia:Mytilidae) from localities on the East Coast of the United States. *Biological Bulletin* 162(3):299-310
- Pieters, H., J. H. Kluytmans, D.I. de Zandee and G. C. Cady. 1980. Tissue composition and reproduction of Mytilus edulis in relation to food availability. *Netherlands Journal of Sea Research*. 14 (3/4):349-361.
- Pipe, R. K. 1985. Seasonal cycles and effect of starvation on egg development in Mytilus edulis. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 24:121-128.
- Price, M., D. Maurer. 1971. Holding and spawning Delaware Bay oyster (Crassostrea virginica) out of season. II. Temperature requirement for maturation of gonad. *Proc. Nat. Shellfish Ass.* 61:29-34.
- Sastry, A.N. 1963. Reproduction in the bay scallop Aequipecten irradians Lamarck. Influence of temperature on maturation and spawning. *Biol. Bull.* 125:146-153
- Sastry, A.N. 1970. Reproductive physiological variation in latitudinally separated populations of the bay scallop Aequipecten irradians Lamarck. *Biol. Bull.* 138:56-65

- Sastry, A.N. 1974. Pelecypoda (excluding Ostreidae) In: Treatise on Physiology and Ecology of Reproduction in Marine Invertebrates (A.C. Giese and J.S. Pearse, eds) Academic Press. New York.
- Seed, R., 1976. Ecology . In: B.L. Bayne (ed). Marine Mussels: Their Ecology and Physiology. Cambridge University Press. Cambridge. 13-65 pp
- Siegel, S. 1960. Estadística no paramétrica. Editorial Trillas Mexico. 344 pp.
- Sosa-Medina, M.E. (en preparación) Tasas fisiológicas en Mytilus edulis bajo acondicionamiento. IIO-UABC.
- Suglura, Y. 1959. Seasonal changes in sexual maturity and sexuality off Mytilus edulis. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 25:1-6
- Thompson, R.J. 1984. The reproductive cycle and physiological ecology of the mussel Mytilus edulis in a subarctic non-estuarine environment. Marine Biology 79:277-288
- Widdows, J. y B.L. Bayne. 1975. Temperature acclimation of Mytilus edulis with reference to its energy budget. J. mar. biol. Ass. U K 51:827-843
- Zandee, D.I., J.H. Kluytmans, W. Zurburg and H. Pieters. 1980. Seasonal variations in biochemical composition of Mytilus edulis with reference to metabolism and gametogenesis. Netherlands Journal of Sea Research. 14(1):1-29

## 7. APENDICE A

Tabla A.1. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras (GM) de los machos del experimento I para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (febrero).  
ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.850	5.993	ns
(A,C)	7.500	6.317	*
(A,campo)	7.583	5.767	*
(B,C)	8.350	5.993	*
(B,campo)	8.433	5.410	*
(C,campo)	0.083	5.767	ns

Tabla A.2. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras (GM) de los machos del experimento I para los sistemas A y B comparados con los organismos del campo al final del experimento (marzo).  
ns = no significativo;

\* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	1.350	3.851	ns
(A,campo)	5.250	4.384	*
(B,campo)	6.600	4.192	*

Tabla A.3. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras (GM) de las hembras del experimento I para el sistema C comparado con los organismos del campo al final del experimento (abril).  
ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(C,campo)	3.600	3.349	*

Tabla A.4. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de los machos del experimento I para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (febrero). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	4.500	6.796	ns
(A,C)	1.000	7.163	ns
(A,campo)	4.667	6.539	ns
(B,C)	5.500	6.796	ns
(B,campo)	9.167	6.134	*
(C,campo)	3.667	6.539	ns

Tabla A.5. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de las hembras del experimento I para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (febrero). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.525	6.543	ns
(A,C)	5.375	6.296	ns
(A,campo)	8.625	6.897	*
(B,C)	5.900	5.906	ns
(B,campo)	9.150	6.543	*
(C,campo)	3.250	6.296	ns

Tabla A.6. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de los machos del experimento I para los sistemas A y B comparados con los organismos del campo al final del experimento (marzo). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	3.150	3.197	ns
(A,campo)	4.250	3.640	*
(B,campo)	7.400	3.481	*

Tabla A.7. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células vesiculares (VTC) de las hembras del experimento I para los tres sistemas de acondicionamiento (A, B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (febrero). ns = no significativo; \* = significativo ( $P < 0.05$ ).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	7.400	5.438	*
(A,C)	5.833	5.233	*
(A,campo)	3.000	6.192	ns
(B,C)	1.567	4.909	ns
(B,campo)	10.400	5.921	*
(C,campo)	8.833	5.733	*

Tabla A.8. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicadas volúmenes de células vesiculares (VTC) de las hembras del experimento I para los sistemas A y B comparados con los organismos del campo al final del experimento (marzo). ns = no significativo; \* = significativo ( $P < 0.05$ ).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	7.575	5.331	*
(A,campo)	1.161	4.981	ns
(B,campo)	6.414	4.653	*

Tabla A.9. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras (GM) de los machos del experimento II para los tres sistemas de acondicionamiento (A, B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (agosto). ns = no significativo; \* = significativo ( $P < 0.05$ ).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	7.714	4.980	*
(A,C)	5.486	5.455	*
(A,campo)	6.714	6.429	*
(B,C)	2.229	5.455	ns
(B,campo)	14.429	6.429	*
(C,campo)	12.200	6.804	*

Tabla A.10. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de los machos del experimento II para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (agosto). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.982	6.608	ns
(A,C)	6.024	7.103	ns
(A,campo)	12.190	8.810	*
(B,C)	5.042	6.895	ns
(B,campo)	11.208	8.644	*
(C,campo)	6.167	9.028	ns

Tabla A.11. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de las hembras del experimento II para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (agosto). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	3.000	5.920	ns
(A,C)	6.000	4.953	*
(A,campo)	2.500	4.586	ns
(B,C)	3.000	5.616	ns
(B,campo)	5.500	5.295	*
(C,campo)	8.500	4.186	*

Tabla A.12. Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células adipogranulares (ADG) de los machos del experimento II para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (agosto). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	6.429	6.760	ns
(A,C)	3.452	7.036	ns
(A,campo)	5.714	7.927	ns
(B,C)	2.976	7.036	ns
(B,campo)	12.143	7.927	*
(C,campo)	9.167	8.163	*

Tabla A.13 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células adipogranulares (ADG) de los machos del experimento II para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al final del experimento (septiembre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	7.286	6.819	*
(A,C)	3.690	7.097	ns
(A,campo)	5.343	7.470	ns
(B,C)	3.595	7.097	ns
(B,campo)	12.629	7.470	*
(C,campo)	9.033	7.725	*

Tabla A.14 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células adipogranulares (ADG) de las hembras del experimento II para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al final del experimento (septiembre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	8.000	4.390	*
(A,C)	1.500	3.802	ns
(A,campo)	6.500	3.802	*
(B,C)	6.500	3.802	*
(B,campo)	1.500	3.802	ns
(C,campo)	5.000	3.105	*

Tabla A.15 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de hemocitos de las hembras del experimento II para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (agosto). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.500	5.307	ns
(A,C)	0.250	4.440	ns
(A,campo)	7.500	4.111	*
(B,C)	0.750	5.035	ns
(B,campo)	7.000	4.747	*
(C,campo)	7.750	3.753	*

Tabla A.16 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras de los machos del experimento III para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (octubre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	2.600	4.694	ns
(A,C)	5.550	4.979	*
(A,campo)	7.133	5.420	*
(B,C)	8.150	4.979	*
(B,campo)	9.733	5.420	*
(C,campo)	1.583	5.668	ns

Tabla A.17 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras (GM) de las hembras del experimento III para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (octubre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	1.000	4.717	ns
(A,C)	7.250	4.717	*
(A,campo)	6.750	4.717	*
(B,C)	8.250	4.717	*
(B,campo)	7.750	4.717	*
(C,campo)	0.500	4.717	ns

Tabla A.18 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de los machos del experimento III para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (octubre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	7.333	5.478	*
(A,C)	1.000	6.709	ns
(A,campo)	0.333	6.709	ns
(B,C)	7.333	6.709	*
(B,campo)	7.000	6.709	*
(C,campo)	0.333	7.747	ns

Tabla A.19 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de las hembras del experimento III para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (octubre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.250	4.633	ns
(A,C)	5.500	4.633	*
(A,campo)	8.750	4.633	*
(B,C)	5.750	4.633	*
(B,campo)	9.000	4.633	*
(C,campo)	3.250	4.633	ns

Tabla A.20 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células adipogranulares de los machos del experimento III para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (octubre) ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	6.167	5.820	*
(A,C)	1.833	6.507	ns
(A,campo)	2.500	7.128	ns
(B,C)	8.000	6.507	*
(B,campo)	8.667	7.128	*
(C,campo)	0.667	7.699	ns

Tabla A.21 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células adipogranulares (ADG) de las hembras del experimento III para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo en el inicio del experimento (octubre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	4.000	4.292	ns
(A,C)	4.500	4.292	*
(A,campo)	4.333	4.636	ns
(B,C)	8.500	4.292	*
(B,campo)	8.333	4.636	*
(C,campo)	0.167	4.636	ns

Tabla A.22 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras (GM) de los machos del experimento IV para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo en el inicio del experimento (diciembre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.000	6.065	ns
(A,C)	0.000	5.647	ns
(A,campo)	11.500	5.349	*
(B,C)	0.000	6.644	ns
(B,campo)	11.500	6.394	*
(C,campo)	11.500	5.998	*

Tabla A.23 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras (GM) de las hembras del experimento IV para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo en el inicio del experimento (diciembre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	4.100	5.507	ns
(A,C)	0.700	5.507	ns
(A,campo)	10.000	5.700	*
(B,C)	3.400	4.163	ns
(B,campo)	5.900	4.415	*
(C,campo)	9.300	4.415	*

Tabla A.24 . Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas maduras de los machos del experimento IV para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al final del experimento (enero). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.500	7.578	ns
(A,C)	0.075	7.054	ns
(A,campo)	9.399	6.404	*
(B,C)	0.425	8.301	ns
(B,campo)	9.839	7.756	*
(C,campo)	9.414	7.246	*

Tabla A.25 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo (GD) de los machos del experimento IV para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo en el inicio del experimento (diciembre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	4.875	6.537	*
(A,C)	3.875	6.085	ns
(A,campo)	12.208	5.765	*
(B,C)	1.000	7.161	ns
(B,campo)	7.333	6.890	*
(C,campo)	8.333	6.464	*

Tabla A.26 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de gametas en desarrollo de las hembras del experimento IV para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo en el inicio del experimento (diciembre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	1.500	6.264	ns
(A,C)	2.100	6.264	ns
(A,campo)	9.500	6.484	*
(B,C)	0.600	4.735	ns
(B,campo)	8.000	5.023	ns
(C,campo)	7.400	5.023	*

Tabla A.27 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células vesiculares (V TC) de los machos del experimento IV para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al inicio del experimento (diciembre). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	1.063	6.036	ns
(A,C)	0.213	5.619	ns
(A,campo)	11.688	5.323	*
(B,C)	1.275	6.612	ns
(B,campo)	10.625	6.362	*
(C,campo)	11.900	5.968	*

Tabla A.28 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada a los volúmenes de células vesiculares de los machos del experimento IV para los tres sistemas de acondicionamiento (A,B y C). Comparación con los organismos del campo al final del experimento (enero). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	1.938	7.730	ns
(A,C)	0.888	7.196	ns
(A,campo)	9.170	6.533	*
(B,C)	2.825	8.467	ns
(B,campo)	7.232	7.911	ns
(C,campo)	10.057	7.391	*

Tabla A.29 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada al índice gonadal húmedo (IGH) de las hembras del experimento I. Comparación del sistema C con los organismos del campo al final del experimento (abril). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(C,campo)	4.000	3.453	*

Tabla A.30 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada al índice gonadal seco (IGS) de las hembras del Experimento I. Comparación del sistema C con los organismos del campo al final del experimento (abril). ns = no significativo; \* = significativo (P<0.05).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(C,campo)	4.401	3.453	*

Tabla A.31 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada al índice gonadal húmedo (IGH) de los machos del Experimento IV. Comparación de los sistemas de acondicionamiento (A,B y C) con los organismos del campo al inicio del experimento (diciembre) ns = no significativo; \* = significativo ( $P < 0.05$ ).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	1.250	6.094	ns
(A,C)	0.050	5.673	ns
(A,campo)	12.107	5.150	*
(B,C)	1.200	6.675	ns
(B,campo)	10.857	6.237	*
(C,campo)	12.057	5.827	*

Tabla A.32 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada al índice gonadal húmedo (IGH) de las hembras del Experimento IV. Comparación de los sistemas de acondicionamiento (A,B y C) con los organismos del campo al inicio del experimento (diciembre) ns = no significativo; \* = significativo ( $P < 0.05$ ).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	1.200	6.337	ns
(A,C)	2.200	6.337	ns
(A,campo)	6.667	6.914	ns
(B,C)	3.400	4.790	ns
(B,campo)	5.467	5.531	ns
(C,campo)	8.867	5.531	*

Tabla A.33 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada al índice gonadal seco (IGS) de los machos del Experimento IV. Comparación de los sistemas de acondicionamiento (A,B y C) con los organismos del campo al inicio del experimento (diciembre) ns = no significativo; \* = significativo ( $P < 0.05$ ).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.625	5.955	ns
(A,C)	0.075	5.544	ns
(A,campo)	12.125	5.033	*
(B,C)	0.700	6.523	ns
(B,campo)	11.500	6.095	*
(C,campo)	12.200	5.694	*

Tabla A.34 Prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples aplicada al índice gonadal húmedo (IGH) de las hembras del Experimento IV. Comparación de los sistemas de acondicionamiento (A,B y C) con los organismos del campo al inicio del experimento (diciembre) ns = no significativo; \* = significativo ( $P < 0.05$ ).

Pareja	Discrepancia Observada	Discrepancia max.compatible	Decisión al 5% de significancia
(A,B)	0.800	6.203	ns
(A,C)	2.000	6.203	ns
(A,campo)	7.000	6.768	*
(B,C)	2.800	4.689	ns
(B,campo)	6.200	5.414	*
(C,campo)	9.000	5.414	*