

ISSN 2448-7333

HIDROBIOLÓGICA

VOLUMEN 28

Número 3, 2018



UAM
Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa



Septiembre-Diciembre de 2018



HIDROBIOLÓGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología

VOLUMEN 28

Número 3

2018

Hidrobiológica es una publicación científica cuatrimestral del Departamento de Hidrobiología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa creada desde 1991. **Hidrobiológica** está dirigida a publicar investigaciones originales e inéditas sobre la hidrología, biología, pesquerías, acuicultura, contaminación y ecología de los recursos y sistemas acuáticos, realizados en México y en todo el mundo.

Hidrobiológica (ISSN 0188-8897) pertenece al Catálogo de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del CONACyT desde 1994. Indizada en:

PERIÓDICA. Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.

Latindex. Catálogo-Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal.

Redalyc. Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal.

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts (ASFA).

ISI-Thomson: Biological Abstracts y Biosis Previews.

E&M Biology (Elsevier)

Journal Citation Reports - Thomson Reuters (JCR)

Página electrónica: <http://hidrobiologica.itz.uam.mx/index.php/revHidro/login>

HIDROBIOLÓGICA. Vol. 28 Año 2018, Número 3, septiembre-diciembre de 2018, es una publicación cuatrimestral editada por la Universidad Autónoma Metropolitana, a través de la Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Hidrobiología. Prolongación Canal de Miramontes 3855, Colonia Ex Hacienda San Juan de Dios, Delegación Tlalpan, C.P. 14387, México, Ciudad de México y Av. San Rafael Atlixco, No. 186, Colonia Vicentina, Delegación Iztapalapa, C.P. 09340, México, Ciudad de México, teléfono: 5804-6475.

Página electrónica de la revista: <http://hidrobiologica.itz.uam.mx> y dirección electrónica: rehb@xanum.uam.mx. Editora Responsable: María Esther Angélica Meave del Castillo. Certificado de Reserva de Derechos al Uso Exclusivo de Título No. 04-2010-072711181500-203.

ISSN para revista electrónica: 2448-7333, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización del número: María Esther Angélica Meave del Castillo, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco, No. 186, Colonia Vicentina, Delegación Iztapalapa, C.P. 09340, México, Ciudad de México.

Fecha de última modificación: 20 de diciembre de 2018. Tamaño de archivo: 11.4 MB.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Universidad Autónoma Metropolitana.

COMITÉ EDITORIAL

Responsable de la edición del número

Editor en Jefe: Dra. Ma. Esther Angélica Meave del Castillo

Área de Fisiología Comparada, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

EDITORES ASOCIADOS

ÁREA SISTEMÁTICA, MORFOLOGÍA Y FILOGENIA

Dra. Jhoana Díaz Larrea

Área de Fisiología Comparada, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dr. Francisco F. Pedroche

Dpto. Ciencias Ambientales, División Ciencias Biológicas y de la Salud.

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma (UAML)

Lerma de Villada, Edo. México, México.

Dr. Abel Senties Granados

Area: Fisiología Comparada, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

M. en C. Jacinto Elías Sedeño Díaz

Laboratorio de Ictiología y Limnología, Departamento de Zoología,

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional

Ciudad de México, México.

ÁREA MANEJO DE RECURSOS ACUÁTICOS

Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa

Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dra. Ana Laura Ibáñez Aguirre

Área de Producción Acuática, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz

Área de Biología Celular, Dpto. de Ciencias de la Salud,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dr. Fernando Vega Villasante

Dpto. de Ciencias Biológicas, Centro Universitario de la Costa Sur,

Universidad de Guadalajara

Autlán, Jalisco, México.

Dr. Carlos Alfonso Álvarez González

Dpto. de Biología y Manejo de Organismos Acuáticos,

División Académica de Ciencias Biológicas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT)

Villahermosa, Tabasco, México.

ÁREA AMBIENTAL

Dra. Guadalupe Barrera Escorcia

Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dra. Flor de Ma. Cuervo López

Área de Microbiología, Dpto. de Biotecnología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dr. Francisco José Gutiérrez Mendieta

Área de Ecosistemas Costeros, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dra. María Teresa Núñez Cardona

Área Estructura y Funcionamiento de los Recursos Naturales Renovables,

Dpto. de el Hombre y su Ambiente,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAMX)

CDMX, México.

Dr. Antonio Márquez García

Área de Geología y Limnología, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dra. Patricia Ramírez Romero

Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dr. Roberto Mendoza Alfaro

Laboratorio de Ecofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas,

Universidad Autónoma de Nuevo León

Monterrey, México.

Dr. Lucio Galaviz Silva

Laboratorio de Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas,

Universidad Autónoma de Nuevo León

Monterrey, México.

ÁREA ECOLOGÍA

Dr. Derik Castillo Guajardo

Área Biología de la Conservación, Dpto. de Ciencias Ambientales,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma (UAML)

Lerma de Villada, Edo. de México, México.

Dra. Margarita Elizabeth Gallegos Martínez

Área de Ecosistemas Costeros, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dr. Margarito Tapia García

Área de Diagnóstico Ecológico y Gestión Ambiental, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX, México.

Dr. Ramón Andrés López Pérez

Área de Ecosistemas Costeros, Dpto. de Hidrobiología,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX. México.

Dra. María del Rocío Zárate Hernández

Dpto. Biología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI)

CDMX. México.

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera

Laboratorio de Esclerocronología, Ecología y Pesquerías de la Zona Costera,

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior (CICESE)

B.C., México.

Dr. Arturo Tripp Quezada

Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas

Instituto Politécnico Nacional Unidad Académica

La Paz, B.C.S., México.

Dr. Gabino Adrián Rodríguez Almaráz

Laboratorio de Entomología y Artrópodos,

Departamento de Zoológia de Invertebrados

Universidad Autónoma de Nuevo León,

Monterrey, Nuevo León, México.

CONSEJO EDITORIAL

Dr. Saúl Álvarez Borrego

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)
Ensenada, México.

Dr. Luis S. Álvarez-Lajonchère

Grupo Picimar,
La Habana, Cuba.

Dra. Guadalupe Judith De la Lanza Espino

Instituto de Biología, UNAM
CDMX, México.

Dr. Alfonso Vázquez Botello

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM
CDMX, México.

Dr. Gerald J. Bakus

Allan Hancock Foundation
University of Southern California
California, USA.

Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)
Ensenada, México.

Dr. Carlos Cáceres Martínez

Universidad Autónoma de Baja California Sur
La Paz, México.

Dr. Roberto Civera Cerecedo

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
La Paz, México.

Dra. Laura Dávalos Lind

Baylor University, Texas
Texas, USA.

Dr. Enrique Reyes

East Carolina University
North Carolina, USA.

Dr. Fernando Díaz Herrera

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)
Ensenada, México.

Dra. Martha E. Ferrario

Facultad de Ciencias Naturales y Museo La Plata
La Plata, Argentina.

Dr. Francisco J. García de León

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
La Paz, México.

Dr. Efraín Abraham Gutiérrez Galindo

Instituto de Investigaciones Oceanológicas
Universidad Autónoma de Baja California
Ensenada, México.

Dr. Jordi Leonart Aliberas

Institut de Ciències del Mar
Barcelona, España.

Dr. Fabio Massa

Experto FAO
Roma, Italia.

Dr. Alejandro Toledo Ocampo

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dr. José Vinicio Macías Zamora

Instituto de Investigaciones Oceanológicas
Universidad Autónoma de Baja California
Ensenada, México.

Dra. Marisa Mazari Hiriart

Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dr. Juan José Morrone Lupi

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dr. Federico Páez Osuna

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
Mazatlán, México.

Dra. Gabriela Parra Olea

Instituto de Biología
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
CDMX, México.

Dra. Dolores Planas

Département des Sciences Biologiques
Université du Québec à Montréal
Québec, Canadá.

Dr. Víctor H. Rivera Monroy

Department of Oceanography and Coastal Sciences
Louisiana State University
Louisiana, USA.

Dr. Gilbert T. Rowe

Texas A&M University
Texas, USA.

Dr. Michael J. Smith

Simon Fraser University
Vancouver, Canadá.

Dra. Mutue Toyota Fujii

Instituto de Botánica São Paulo
São Paulo, Brasil.

Dr. Martin F. Wojciechowski

Arizona State University
Arizona, USA.

Dr. Giuseppe C. Zuccarello

Vitoria University of Wellington
Wellington, Nueva Zelanda.

HIDROBIOLÓGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología de la
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa

ÍNDICE AL VOLUMEN 28, NÚMERO 3 • 2018

Angulo-Campillo O. y G. Aceves-Medina

- Dos nuevas especies de pterópodos gimnosomados del Golfo de California (Gymnosomata:
Pneumodermatidae) 231-237

Nájera-Arzola I. C., C. A. Álvarez-González, C. A. Frías-Quintana, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, O. Méndez-Marín y E. Gisbert

- Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto
(*Atractosteus tropicus*) 239-246

Pérez-Campos R. A. A., C. Pascual-Jiménez, N. Herrera-Salvaterra, J. A. Pérez-Vega, R. Zamora-Bustillos y R. Rodríguez-Canul

- Factores de riesgo asociados a la transmisión del virus PaV1 en langostas *Panulirus argus* en dos principales
zonas de pesca del estado de Yucatán, México 247-255

Carrillo Longoria J. A., D. Sánchez Ávila, L. H. Hernández Hernández, O. Ángeles López y M. A. Fernández Araizal

- Reemplazo de harina de pescado con gluten de maíz en dietas de juveniles de trucha arcoíris
(*Oncorhynchus mykiss*): efectos en crecimiento y otros parámetros fisiológicos 257-263

Alejo-Plata M. del C., M. A. Ahumada-Sempoal, G. Cerdáres Ladrón de Guevara y J. L. Gómez-Márquez

- Estructura poblacional y biología reproductiva del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes:
Sphyrnidae) capturado en la pesca artesanal de Oaxaca, México 265-275

Tas-Divrik M. y T. Kirgiz

- Fauna macrobentónica del río Meric (Tracia turca): composición de la comunidad en relación a la calidad
del agua 277-285

Martín-Manzo M. V., C. Angulo, E. Zenteno-Galindo, A. P. Sierra-Beltrán, C. Agundis-Mata, F. Ascencio, M. A. Guzmán-Murillo, I. E. Luis-Villaseñor, A. Pereyra y Á. I. Campa-Córdova

- Eficiencia de lectinas como inmuñóindicadores en juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*
(Malacostraca: Penaeidae) 287-294

Vélez-Arellano N., R. Salgado García, F. A. García-Domínguez, D. B. Lluch-Cota y J. L. Gutiérrez-González

- Fecundidad en góndadas maduras de *Haliotis fulgens* y *Haliotis corrugata* (Vetigastropoda) 295-300

Escamilla-Montes R., G. Diarte-Plata, C. A. Ruíz-Verdugo, S. Granados-Alcantar, A. Luna-González, H. Vázquez-López, J. A. Fierro-Coronado, G. De la Cruz-Agüero y M. T. Villalejo-Fuerte	
Patrones de crecimiento y proporción de sexos de la jaiba <i>Callinectes bellicosus</i> (Decapoda: Portunidae)	301-311
García-Domínguez F. A., L. Carvalho-Saucedo y N. Vélez-Arellano	
Ciclo reproductivo en dos bancos de <i>Modiolus capax</i> (Bivalvia: Mytilidae) a diferente profundidad en la Ensenada de La Paz, Golfo de California, México	313-323
Arce-Peinado C. A., M. Arellano-Martínez y B. P. Ceballos-Vázquez	
Ciclo reproductivo de la almeja roñosa <i>Chione undatella</i> en las costas de la región minera de Santa Rosalía, Baja California Sur, México.....	325-334
Cassiano Keppeler E., A. Jacob Serra, L. J. Soares Vieira, J. de Oliveira Pereira, M. Torres da Silva, M. J. Alencar dos Santos y A. Sergio Ferraudo	
Fluctuación estacional de Rotifera de un lago tropical en la Amazonia (llanura de inundación del Río Acre, Brasil)	335-347
NOTAS CIENTÍFICAS	
Tinajero R., A. Partida-Pérez y M. P. Bermúdez-González	
Primer registro del caracol viajero invasor <i>Melanoides tuberculata</i> (Gastropoda: Thiaridae) en San Luis Potosí, México	349-351
Índice del volumen 28	353-354
Índice de autores	355-357

HIDROBIOLÓGICA

A Journal from Department of Hydrology of the
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa

VOLUME INDEX 28, NUMBER 3 • 2018

Angulo-Campillo O. and G. Aceves-Medina

- Two new species of gymnosomatous pteropods from the Gulf of California (Gymnosomata:
Pneumodermatidae) 231-237

Nájera-Arzola I. C., C. A. Álvarez-González, C. A. Frías-Quintana, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, O. Méndez-Marín and E. Gisbert

- Evaluation of Mannan oligosaccharides (MOS) in balanced diets for tropical gar juveniles (*Atractosteus*
tropicus) 239-246

Pérez-Campos R. A. A., C. Pascual-Jiménez, N. Herrera-Salvatierra, J. A. Pérez-Vega, R. Zamora-Bustillos and R. Rodríguez-Canul

- Risk factors associated with the transmission of the PaV1 virus in spiny lobsters, *Panulirus argus*, from two
main fishing areas in the state of Yucatan, Mexico 247-255

Carrillo Longoria J. A., D. Sánchez Ávila, L. H. Hernández Hernández, O. Ángeles López and M. A. Fernández Araizal

- Replacement of fish meal with corn gluten in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on
growth and other physiological parameters 257-263

Alejo-Plata M. del C., M. A. Ahumada-Sempoal, G. Cerdáres Ladrón de Guevara and J. L. Gómez-Márquez

- Population structure and reproductive biology of the scalloped hammerhead *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes:
Sphyrnidae) caught in artisanal fisheries of Oaxaca, Mexico 265-275

Tas-Divrik M. and T. Kirgiz

- Macrofauna of the Meric River (Turkish Thrace): Composition of the community as related
to water quality 277-285

Martín-Manzo M. V., C. Angulo, E. Zenteno-Galindo, A. P. Sierra-Beltrán, C. Agundis-Mata, F. Ascencio, M. A. Guzmán-Murillo, I. E. Luis-Villaseñor, A. Pereyra and Á. I. Campa-Córdova

- Efficiency of lectins as immune indicators in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*
(Malacostraca: Penaeidae) 287-294

Vélez-Arellano N., R. Salgado García, F. A. García-Domínguez, D. B. Lluch-Cota and J. L. Gutiérrez-González

- Fecundity in ripe gonad of *Haliotis fulgens* and *Haliotis corrugata* (Vetigastropoda) 295-300

Escamilla-Montes R., G. Diarte-Plata, C. A. Ruíz-Verdugo, S. Granados-Alcantar, A. Luna-González, H. Vázquez-López, J. A. Fierro-Coronado, G. De la Cruz-Agüero and M. T. Villalejo-Fuerte	
Growth patterns and sex ratio of the crab <i>Callinectes bellicosus</i> (Decapoda: Portunidae).....	301-311
García-Domínguez F. A., L. Carvalho-Saucedo and N. Vélez-Arellano	
Reproductive cycle of two <i>Modiolus capax</i> (Bivalvia: Mytilidae) beds at different depths at Ensenada de La Paz, Gulf of California, Mexico	313-323
Arce-Peinado C. A., M. Arellano-Martínez and B. P. Ceballos-Vázquez	
Reproductive cycle of venus clam <i>Chione undatella</i> in the coasts of the Santa Rosalía mining region, Baja California Sur, Mexico	325-324
Cassiano Keppeler E., A. Jacob Serra, L. J. Soares Vieira, J. de Oliveira Pereira, M. Torres da Silva, M. J. Alencar dos Santos and A. Sergio Ferrando	
Seasonal fluctuations of Rotifera in a tropical lake in Amazonia (Acre River floodplain, Brazil).....	335-347
SCIENTIFIC NOTE	
Tinajero R., A. Partida-Pérez and M. P. Bermúdez-González	
First record of the invasive exptoc snail <i>Melanoides tuberculata</i> (Gastropoda: Thiaridae) in San Luis Potosí, Mexico.....	349-351
Volume 28 index	353-354
Author index	355-357

Two new species of gymnosomatous pteropods from the Gulf of California (Gymnosomata: Pneumodermatidae)

Dos nuevas especies de pterópodos gimnosomados del Golfo de California (Gymnosomata: Pneumodermatidae)

Orso Angulo-Campillo^{1*}  and Gerardo Aceves-Medina¹ 

Recibido: 02 de febrero de 2017.

Aceptado: 02 de agosto de 2018.

Publicado: 05 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: Los Gymnosomata es un grupo de moluscos adaptado a la vida pelágica, que incluye unas 47 especies válidas en todo el mundo. En arrastres de zooplancton realizados en el Golfo de California durante enero de 2007, se recolectaron especímenes de dos especies diferentes de Gymnosomata con características morfológicas que no pertenecían a ninguna de las especies previamente descritas. **Objetivos:** Describir con base en las características de la rádula, dos nuevas especies de moluscos gimnosomados recolectados en la porción central del Golfo de California, México. **Métodos:** Diez especímenes de Gymnosomata fueron obtenidos de arrastres de zooplancton usando un Sistema de redes Bongo. Todos los organismos descritos se identificaron en estadio adulto. Tres especímenes fueron disectados y su masa bucal fue removida y disuelta en hidróxido de sodio al 10% hasta que la rádula quedara sin el tejido que la rodea. Posteriormente, la rádula fue montada para fotografías de microscopía electrónica. **Resultados:** Se describieron dos nuevas especies, *Pneumoderma cicimarensis* sp. nov. y *Pneumodermopsis tacoi* sp. nov. **Conclusiones:** *Pneumoderma cicimarensis* sp. nov., tiene una morfología similar a *Pneumoderma pacificum* Dall, 1871, pero difiere en la presencia de un lóbulo en la porción media del ala, la ausencia de cromatóforos en el cuerpo y en la forma de los dientes radulares. *Pneumodermopsis tacoi* sp. nov., tiene una rádula similar a la de *Pneumodermopsis ciliata* (Gegenbaur, 1855), pero difiere significativamente en el número de hileras de la rádula y en la forma de los dientes centrales.

¹ Instituto Politécnico Nacional-CICIMAR.
Departamento de Plancton y Ecología Marina. Av. IPN s/n. Col. Palo de Santa Rita. AP.592. C.P. 23096.La Paz, Baja California Sur, México

*Author for correspondence:
orsoanguloc@gmail.com

To cite as:

Angulo-Campillo O. and G. Aceves-Medina. 2018. Two new species of gymnosomatous pteropods from the Gulf of California (Gymnosomata: Pneumodermatidae). *Hidrobiológica* 28 (3): 231-237.

DOI:10.24275/uam/itz/dcbs/hidro/2018v28n3/
Aceves

ABSTRACT

Background: The Gymnosomata is a group of mollusks adapted to pelagic life, which includes about 47 valid species worldwide. Zooplankton tows in the Gulf of California during January 2007 led to the collection of specimens of two different species of Gymnosomata with morphologic characters that did not belong to any species previously described. **Goals:** To describe, based on radular characteristics, two new species of gymnosomatous mollusks collected at the central portion of the Gulf of California, Mexico. **Methods:** Ten specimens of Gymnosomata were obtained with zooplankton tows using a Bongo net system. All the organisms described were identified as adult stages. Three specimens were dissected, and their buccal mass was removed and dissolved in 10% sodium hydroxide until the radula was isolated from the surrounding tissue. Posteriorly the radula was mounted for scanning electron micrographs. **Results:** Two new species were described, *Pneumoderma cicimarensis* sp. nov. and *Pneumodermopsis tacoi* sp. nov. **Conclusions:** *Pneumoderma cicimarensis* sp. nov. has a similar morphology to *Pneumoderma pacificum* Dall, 1871, but differs in the presence of one lobe on the median portion of the wing, a lack of chromatophores in the body and the shape of the radular teeth. *Pneumodermopsis tacoi* sp. nov. has a similar radula to *Pneumodermopsis ciliata* (Gegenbaur, 1855), but differs significantly in the number of rows of the radula and the shape of the central tooth.

Keywords: holoplanktonic molluscs, new species, Gymnosomata, *Pneumoderma*, *Pneumodermopsis*

INTRODUCTION

The Gulf of California is a hydrographically complex region. It possesses strong environmental gradients and latitudinally is associated with convergence in its central region, which results in highly diverse environments due to the mix of temperate, subtropical, and tropical species in a relatively small area (Riginos, 2005). With its high number of microhabitats, the region also has a high number of endemic marine species (Briggs, 1974; Brinton & Townsend, 1980; Brusca & Findley, 2005). For poorly known groups the possibility of finding new species increases, such in the case of gymnosomatous pteropods.

The Gymnosomata is one of two groups within Pteropoda (Jörger *et al.*, 2010; Schrödl *et al.*, 2011) that has adapted for pelagic life (Lalli & Gilmer, 1989). The Gymnosomata, which have no shells, and the Thecosomata, most of which have shells. The division between these two holoplanktonic groups of molluscs is justified by other anatomical characteristics as well (Pelseneer, 1887). The absence of a shell in gymnosomes results in most of the specimens contracting into indistinguishable forms after preservation and all taxonomic features are altered. Despite this problem, the Gymnosomata include about 47 valid species contained in four families (Gofas, 2018). Pneumodermatidae (Pelseneer, 1857) is the most specious with 18 species worldwide (5 *Pneumoderma*, 13 *Pneumodermopsis*) (Spoel *et al.*, 1997; Bouchet & Gofas, 2018a, b). The distinctive characteristics of Pneumodermatidae are the presence of suckers on the ventral side of the protrustile on the anterior portion of the buccal cavity, a lateral gill on the right side of the body, a jaw and pigmented skin (Pelseneer, 1887). Only four species are registered in the Gulf of California, one belonging to the genus *Pneumoderma* (Cuvier, 1805). These are *Pneumoderma pacificum* Dall, 1871 and three belong to *Pneumodermopsis* Keferstein, 1862, i.e., *Pneumodermopsis canephora* Pruvot-Fol, 1924, *Pneumodermopsis ciliata* (Gegenbaur, 1855) and *Pneumodermopsis macrochira* Meisenheimer, 1905 (Angulo-Campillo *et al.*, 2011).

Zooplankton tows in the Gulf of California were performed to obtain a collection of specimens of Gymnosomata with morphologic characteristics that did not belong to any species previously described. Two new species of gymnosomes collected from the central portion of the Gulf of California, Mexico, were described here based on radular characteristics.

MATERIALS AND METHODS

Ten specimens of Gymnosomata were obtained from the central region of the Gulf of California during an oceanographic survey in January 2007. The specimens were captured using oblique tows with Bongo nets of 505 µm mesh. Tows were made at a maximum depth of 200 m. The specimens were preserved in 95% ethanol and deposited at the Department of Invertebrate Zoology and Geology of the California Academy of Sciences, San Francisco (CASIZ). The external features were examined and drawn using a dissecting microscope with a camera lucida. All the organisms described here were identified as adult stages using as indicative the presence of a well-developed lateral gill as well as the presence of a developed gonad. Three specimens were dissected, two specimens for *Pneumoderma cicimarensis* sp. nov. and one for *Pneumodermopsis tacoi* sp. nov. The buccal mass was removed and dissolved in 10% sodium hydroxide until the radula was isolated from the surrounding tissue (Geiger *et al.*, 2007); later, the radula was

mounted for scanning electron micrographs (SEMs) produced on a Hitachi S-3000N scanning electron microscope at CIBNOR.

RESULTS

Family Pneumodermatidae Pelseneer, 1857

Genus *Pneumoderma* Cuvier, 1805

***Pneumoderma cicimarensis* sp. nov. (Figs 1a-f)**

Type Species: *Pneumodermon pacificum* Dall, 1871: 139; 37°8' N 136°10' W. Coll.: Dall, reg. no. 301.

Previous references: *Pneumoderma* sp. Angulo-Campillo *et al.*, 2011.

Etymology: The specific name *cicimarensis* is taken from the acronym CICIMAR (Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas), which refers to the institution where the authors completed their Ph.D.

Type Material: Holotype: Central portion of the Gulf of California (27°49'22" N, 111°24'4" W), 4.3 mm body length, collected by Orso Angulo and Gerardo Aceves, 21 January 2007. (CASIZ 178438).

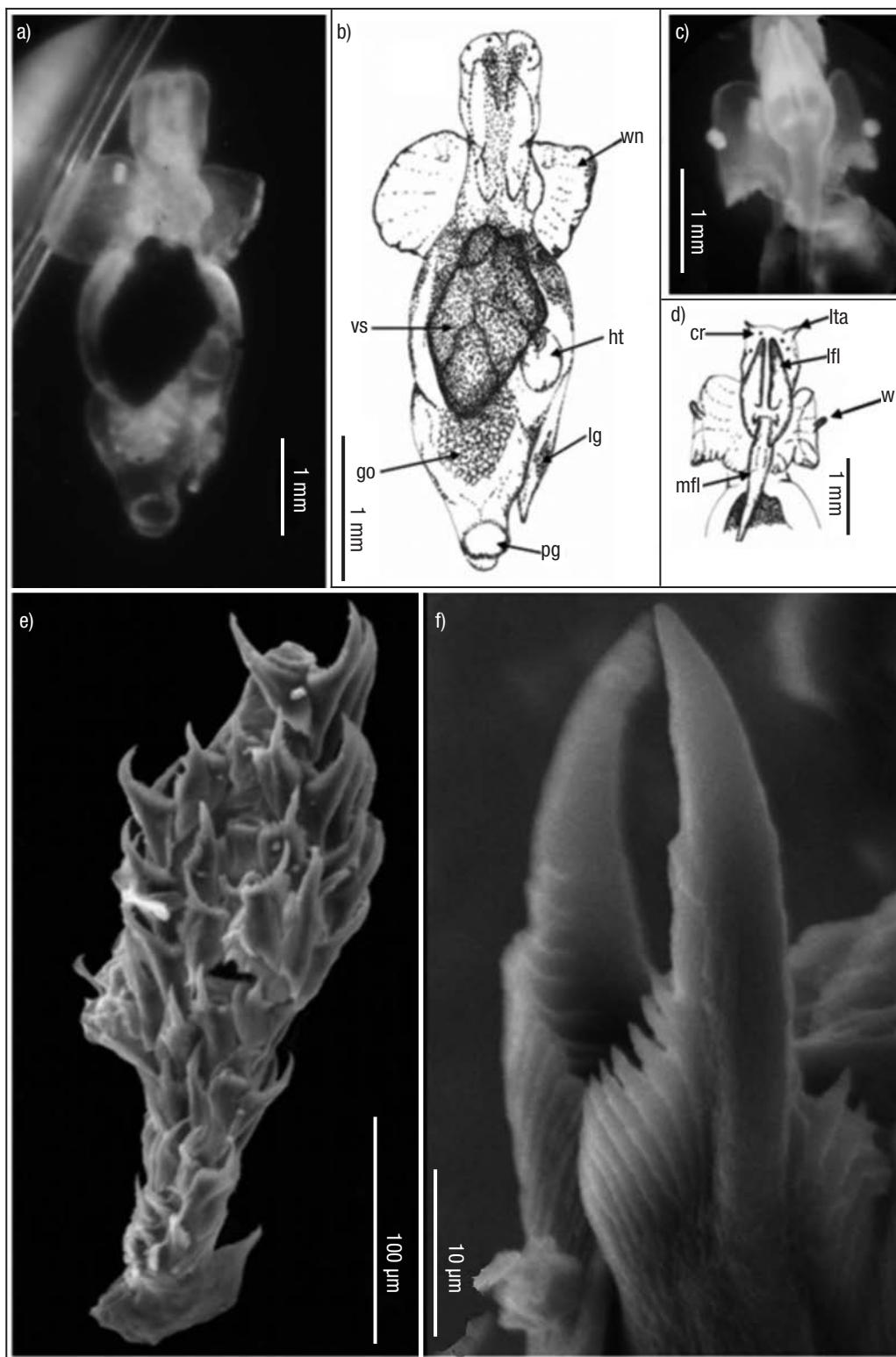
Paratypes: two specimens, 4.2 and 2.8 mm body length (CASIZ 178439), central portion of the Gulf of California (26°45'2" N, 110°53'4" W), one specimen 3.1 mm body length, collected by Orso Angulo and Gerardo Aceves, 22 January 2007. (CASIZ 178440).

Additional material: two specimens 3.1 and 3.0 mm (dissected), collected on 22 January 2007 from near shore waters west of Santa Rosalia, Baja California Sur, Mexico (26°25'22" N, 110°32'12" W), by Orso Angulo and Francisco Dominguez.

Type locality: Central portion of the Gulf of California (27°49'22" N, 111°24'4" W), caught in tows made between 200 m depth and the sea surface.

Geographic distribution: Known only to inhabit in the Gulf of California.

Description: External morphology: Body color: translucent; head: cream colored. Visceral mass: dark. Body: cylindrical; rounded anteriorly when extended, and barrel shaped when contracted (Fig. 1a). Head differentiated from the body. Wings subquadrate, slightly notched at their inner posterior edge with one lobe on the median portion of the wing (Fig. 1b). Small chromatophores in the head. Two lateral arms with two suckers each on the mouth region. Lateral footlobes short, reaching 1/4 length of the median footlobe, which is long and pointed when extended, reaching one third the length of the trunk. The viscera can be seen through the body walls, reaching two-thirds the length of the trunk. A long lateral gill with a dorsal spot situated on the upper portion. The lateral gill extends up to two thirds the length of the body where it reaches the margin of the posterior gill, which is simple (without ornaments) and fringed, well-marked regular undulations (Figs 1c-d). Radula (Figs 1e-f): The radula formula is 3.0.3 with nine rows (Fig. 1e). The radular teeth have a large, curved, and pointed central cusp. On each side of the central cusp there are 11 to 13 smooth, shorter denticles (Fig. 1f). Denticles are slightly curved inwards, with long ridges that extend to the base of the central cusp.



Figures 1a-f. *Pneumoderma cicimarensis* sp. nov. a) Ventral view of live specimen, holotype, 4.3 mm long (CASIZ 178438). b) Anatomical sketches drawn with the aid of a camera lucida. c) Close-up of the dorsal portion showing the footlobes and wing lobes. d) Anatomical sketches of the dorsum. e) Radula. f) Detail of teeth. Cr = Cromatophore; go = Gonad; ht = Heart; lfl = Lateral foot lobe; lg = Lateral gill; lta = Lateral arm; mfl = Median foot lobe; pg = Posterior gill; vs = viscera; wl = Wing lobe; wn = Wing.

Remarks: The placement of *Pneumoderma cicimarensis* sp. nov. in the Pneumodermatidae is based on the presence of a lateral gill, differentiation of the cephalic region and presence of chromatophores, while the presence of a dorsal glandular spot is characteristic of the genus (Pelseneer 1857). The other four species are not found in the eastern Pacific and they do not have a wing lobe (Table 1). *P. cicimarensis* sp. nov. is unique within the genus with the presence of one lobe on each wing; this characteristic has not been described in any other member of the family or gymnosome. Another characteristic feature is the absence of chromatophores on the trunk. *P. pacificum* differs from *P. cicimarensis* sp. nov. in coloration; *P. pacificum* is purple, and chromatophores extend through the entire body. In addition, the form of the teeth and radula formulae is different; in *P. cicimarensis* sp. nov. the radula formula is 3.0.3 and teeth are hook-shaped with serrated edges that extend to the base of the central cusp, while in *P. pacificum* it is 4.0.4, and teeth are also hook-shaped, but slender with no serrations or edges (Spoel *et al.*, 1997) (Table 1).

Genus *Pneumodermopsis* Keferstein, 1862

***Pneumodermopsis tacoi* sp. nov. (Figs 2a-d)**

Type species: *Pneumodermmon ciliatum* Gegenbaur, 1855: 74. Type locality: not located.

Previous references: *Pneumodermopsis* sp. Angulo-Campillo *et al.*, 2011, Moreno-Alcántara *et al.*, 2014.

Etymology: The specific name *tacoi* is given in honor to Enrique González, teacher and mentor of both authors, who is known among his friends as Taco.

Type Material: Holotype: northwest of Guaymas, Sonora ($27^{\circ}29'42''$ N, $111^{\circ}24'38''$ W), 3.1 mm body length, collected by Orso Angulo and Francisco Domínguez. January 21, 2007. (CASIZ 178441).

Paratypes: two specimens, 2.9 mm and 2.6 mm body length (CASIZ 178442), same locality as the holotype.

Additional material: one specimen 2.5 mm body length (dissected), same locality.

Type locality: Northwest of Guaymas, Sonora ($27^{\circ}29'42''$ N, $111^{\circ}24'38''$ W), caught in tows made between 200 m deep and the sea surface.

Geographic distribution: Known in the Gulf of California and Gulf of Tehuantepec

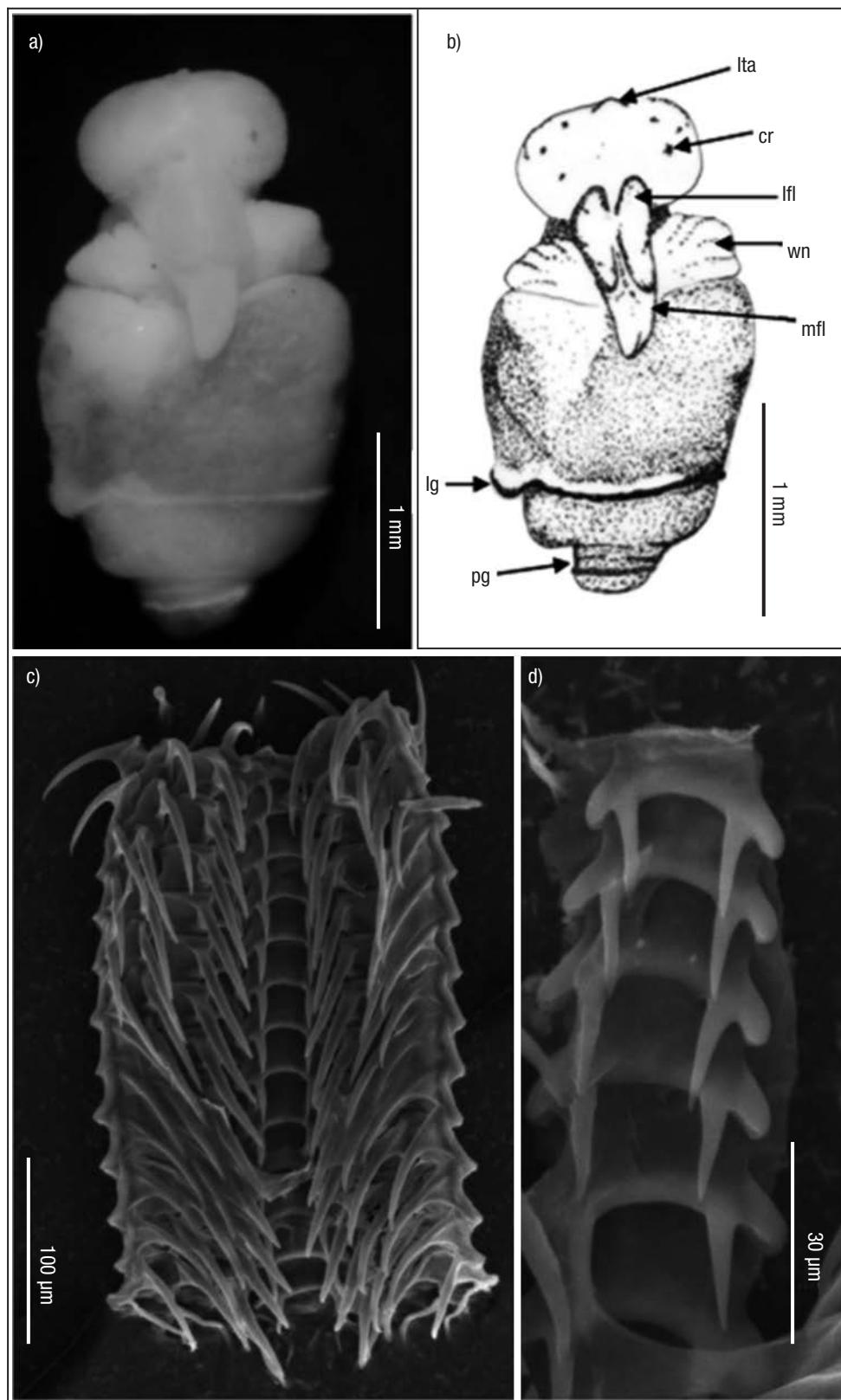
Description: External morphology: Body color: cream, semi-translucent. Visceral mass: brown. Body cylindrical and barrel shaped (Fig. 2a). Head differentiated from the body. Small wings. Small chromatophores in the head. Two lateral suckers arms. Lateral footlobes: short, reaching 1/4 the length of the median footlobe, which is long and thick. Viscera visible through the body wall. A well-developed lateral gill present with a dorsal spot situated on the upper portion. Posterior gill: simple and clearly fringed (Fig. 2b). Radula (Figs 2c-d): The radula formula 3.1.3 (in 13 rows). Lateral teeth: long, slender, and hook-shaped (Fig. 2c). Median teeth: bicuspids (Fig. 2d); base: simple with no ornateations.

Remarks: The placement of *Pneumodermopsis tacoi* sp. nov. in the Pneumodermatidae is based on the presence of a lateral gill, differentiation of the cephalic region and presence of chromatophores. Due to preservation effects, it was impossible to determine the number of suckers on the lateral arms, thus the description is based on the radula formula. Presence of central teeth accommodates within the *Pneumodermopsis*. A previous report of *Pneumodermopsis* from the North Pacific includes *P. ciliata* and *P. paucidens* (Boas, 1886) (Spoel *et al.*, 1997). In *P. ciliata* the number of lateral teeth varies from 5.1.5 to 6.1.6, with 18 to 25 rows, and with tricuspid median teeth (Spoel & Pafort-Van Lersel, 1982). The teeth shape of *P. paucidens* is similar to that of *P. tacoi* sp. nov., both species have bicuspids median teeth without a central cusp. However, the radula of *P. paucidens* as illustrated in Spoel *et al.* (1997) compared with the radula of *P. tacoi* sp. nov. shows differences between them since the lateral teeth in *P. tacoi* sp. nov. are larger and slender, and the bicuspids teeth are larger. In addition, *P. paucidens* has only a median arm with a large sucker, whereas *P. tacoi* sp. nov. has two lateral arms with small suckers. Remaining species of this genus have a higher number of lateral teeth, except *P. polycotyla* (Boas, 1886) and *P. spoeli* Newman & Greenwood, 1988, which have 2 lateral teeth. However, *P. spoeli* has 24 lateral arms suckers and *P. polycotyla* is distributed only in the Atlantic and Mediterranean (Table 2).

Table 1. Meristic characteristics of *Pneumoderma* species. Lt = Length (mm); Lam = Lateral arm suckers; RF = Radula formula; HH = Number hooks in hook sac; Chr = Chromatophores; WI = Wing lobe; p = present; a = absent.

Species	Lt	Lam	RF	HH	Chr	WI	Distribution
<i>P. cicimarensis</i> sp. nov	45	2	3-0-3	p	p	p	Gulf of California
<i>P. pacificum</i> (Dall, 1871)*	25	50	4-0-4	?	p	a	Cosmopolitan of warm waters
<i>P. violaceum</i> d'Orbigny, 1834*	7	40	?	?	a	a	Warm waters Atlantic and Mediterranean
<i>P. degraaffi</i> Spoel & Pafort-van Lersel, 1982	12	6-8	3-0-3	200	p	a	N Atlantic
<i>P. heronensis</i> Newman & Spoel, 1989	11	12	6-0-6	100	p	a	Australia
<i>P. mediterraneum</i> Van Beden, 1838*	20	7	7-0-7	40	p	a	Atlantic, Mediterranean, Indo-Pacific

* Data obtained from Spoel *et al.* (1997), number of valid species based from Bouchet and Gofas (2018a).



Figures 2a-d. *Pneumodermopsis tacoi* sp. nov. a) Dorsal view of preserved specimen holotype, 3.1 mm length (CASIZ 178441); b) Anatomical sketches; c) Radula; d) Rachidian. Cr = Cromatophore; lfl = Lateral foot lobe; lg = Lateral gill; Ita = Lateral arm; mfl = Median foot lobe; pg = Posterior gill; wn = Wing.

Table 2. Meristic characteristics of *Pneumodermopsis* species. Lt = Length (mm); Lg = lateral gill; Pg = posterior gill; Lam = Lateral arm suckers; RF = Radula formula; HH = Number hooks in hook sac; Chr = Chromatophores; WI = Wing lobe; p = present; a = absent.

Species	Lt	Lg	Pg	Lam	RF	HH	Distribution
<i>P. tacoi</i> sp. nov.	3	p	p	2	3-1-3	-	Gulf of California, Gulf of Tehuantepec
<i>P. brachialis</i> Minichev, 1976*	15	a	p	12	4-1-4	40	Antarctic
<i>P. canephora</i> Pruvot-Fol, 1924*	12	p	a	1	5-1-5	30-60	Atlantic, Mediterranean, Indo-Pacific,
<i>P. ciliata</i> (Gegenbaur, 1855)*	15	p	a	7-8	7-1-7	30-40	N-Atlantic, Mediterranean, N-Pacific
<i>P. macrochira</i> (Meisenheimer, 1905)*	8	p	p	55	6-1-6	16-20	N-Atlantic, N-Pacific and Tasman Sea
<i>P. macrocotyla</i> Zhang, 1964*	8	p	a	4	7-17	40	China Sea and Yellow Sea
<i>P. michaelsarsi</i> Bonnevie, 1913*	11	p	p	8	6-1-6	20-50	N-Antarctic
<i>P. minuta</i> Pelseneer, 1887	3	p	a	8	?	?	Tropical Pacific
<i>P. paucidens</i> (Boas, 1886)*	5	p	p	10-12	2-3-1-2-3	5-6	Indo & N- Pacific, Atlantic, Mediterranean
<i>P. polycotyla</i> (Boas, 1886)*	5	p	p	?	2-1-2	6	Atlantic and Mediterranean
<i>P. pupula</i> Pruvot-Fol, 1926*	2	a	a	5	8-1-8	12	Atlantic and Mediterranean
<i>P. simplex</i> (Boas, 1886)*	5	p	a	-	6-1-6	40-50	South Atlantic
<i>P. teschi</i> Spoel, 1973	9	p	a	12-20	3-7-1-3-7	10	NE-Atlantic and Mediterranean
<i>P. spoeli</i> Newman & Greenwood, 1988	27	a	p	24	2-1-2	6	Great Barrier Reef, Australia

* Data obtained from Spoel *et al.* (1997), number of valid species based from Bouchet and Gofas (2018b).

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología through the projects FOSEMARNAT-2004-01-C01-144, SAGARPA S007-2005-1-11717. Laboratory work and data analyses were also supported by the Instituto Politécnico Nacional through scientific initiatives SIP20080918, SIP20090303, SIP20100667, SIP20110643, SIP20120878, SIP 20180256 and CONABIO HA-012. GAM wishes to thank CICIMAR-IPN/COFAA and EDI authorities for their grants and support, as well as the Sistema Nacional de Investigadores-CONACyT for its grant. OJAC wishes to thank the Programa de Apoyo a Doctores de CONACyT, as well as CONACyT, and the Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) for fellowship support. We thank the crew, students, and researchers who participated on the R/V 'El Puma' for their cooperation in collecting biological samples. We thank Dr. Carlos Robinson (ICMyL-UNAM) who authorized us to use the data and samples obtained during the CAPEGOLCA cruise and published in this study. This work was also partially funded by the Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, PAPIIT IN219502, IN210622), and the Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (Instituto Politécnico Nacional, SIP 2005–2007 research projects). Many thanks to Jaime Gomez, Francisco Domínguez, and the helpful comments of Marta Pola, Keith Bayha, and Donald W. Johnson. The SEM work was conducted at CIBNOR.

REFERENCES

- ANGULO-CAMPILLO, O., G. ACEVES-MEDINA & R. AVEDAÑO-IBARRA. 2011. Holoplanktonic mollusks (Mollusca:Gastropoda) from the Gulf of California, México. *Check List Journal* 7: 336-342. DOI:10.15560/7.3.337
- BOUCHET, P. & S. GOFAS. 2018a. *Pneumoderma* de Roissy, 1805. In MolluscaBase (2018). *Pneumoderma* de Roissy, 1805. Available online through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=138365> (downloaded July 28, 2018).
- BOUCHET, P. & S. GOFAS. 2018b. *Pneumodermopsis* Keferstein, 1862. In MolluscaBase (2018). *Pneumodermopsis* Keferstein, 1862. Available online through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=138366> (downloaded July 28, 2018).
- BRIGGS, C. 1974. *Marine Zoogeography*. McGraw-Hill. University of California Press. 475 p.
- BRINTON, E. & A. TOWNSEND. 1980. Euphasiids in the Gulf of California- the 1957 cruises. *CalCOLFI Reports* 21: 211-236.
- BRUSCA, C. & L. FINDLEY. 2005. Golfo de California. In: Hendrickx, M., R. Brusca & L. Findley (eds). *Listado y Distribución de la Macrofauna del Golfo de California, México, Parte I. Invertebrados*. Arizona-Sonora Desert Museum, Tucson, AZ. 120 pp.

- nora Desert Museum and Conservation International. Tucson Arizona, pp. 1-24.
- GEIGER, D., B. MARSHALL, W. PONDER, T. SASAKI & A. WARÉN. 2007. Techniques for collecting, handling, preparing, storing and examining small molluscan specimens. *Molluscan Research* 27: 1-50.
- Gofas, S. 2009. Gymnosomata. In: MolluscaBase (2018). *Gymnosomata*. Available online through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=164> (downloaded July 28, 2018).
- JÖRGER, K. M., I. STÖRGER, Y. KANO, H. FUKUDA, T. KNEBELSBERGER & M. SCHRÖDL. 2010. On the origin of Acochlidia and other enigmatic euthyneuran gastropods, with implications for the systematics of Heterobranchia. *BMC Evolutionary Biology* 10: 323. DOI:10.1186/1471-2148-10-323
- LALLI, C. & R. GILMER. 1989. *Pelagic Snails. The Biology of Holoplanktonic Gastropod Mollusks*. Stanford University Press, Stanford, California. 276 p.
- MORENO-ALCÁNTARA, M., G. ACEVES-MEDINA, O. ANGULO-CAMPILLO & J. MURAD-SE-RRANO. 2014. Holoplanktonic Molluscs (Gastropoda:Pterotracheoidea, Thecosomata and Gymnosomata) from the Southern Mexican Pacific. *Journal of Molluscan Studies* 80:131-138. DOI:10.1093/mollus/eyu006
- NEWMAN, L. & S. SPOEL. 1989. *Pneumoderma heroensis* nov. sp.: A new pteropod (Opisthobranchia; Gymnosomata) from Australian waters. *Bulletin Zoölogisch Museum* 12: 81-85.
- Pelseneer, P. 1887. Report on the Pteropoda collected by H.M.S. Challenger during the years 1873-76. I. The Gymnosomata. Scientific Report "Challenger". *Zoology* 19: 1-74.
- Riginos, C. 2005. Cryptic vicariance in Gulf of California fishes parallels vicariant patterns found in Baja California mammals and reptiles. *Evolution* 59: 2678-2690.
- Schrödl, M., K. Jörger, A. Klussmann-Kolb & N. Wilson. 2011. Bye Bye "Opisthobranchia". A review on the contributions of Mesopsammic sea slugs to Euthyneuran systematics. *Thalassas* 27: 101-112.
- SPOEL, S. & T. PAFORT-VAN IERSEL. 1982. *Pneumoderma degraaffi* n. sp., a pteropod new two science (Mollusca Opisthobranchia). *Bulletin Zoölogisch Museum* 9: 17-20.
- SPOEL, S., L. NEWMAN & K. W. ESTEP. 1997. Pelagic molluscs of the World. World Biodiversity Data Base, CD-ROM Series. Expert Center for Taxonomist Identification (ETI). UNESCO. Amsterdam and Paris.

Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*)

Evaluation of Mannan oligosaccharides (MOS) in balanced diets for tropical gar juveniles (*Atractosteus tropicus*)

Isabel C. Nájera-Arzola¹, Carlos A. Álvarez-González¹*, Carlos A. Frías-Quintana¹*, Emyr Peña^{1,3}*, Rafael Martínez-García¹*, Susana Camarillo-Coop¹*, Otilio Méndez-Marín¹ y Enric Gisbert²

Recibido: 05 de junio de 2017.

Aceptado: 26 de septiembre de 2018.

Publicado: 05 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: Los prebióticos son polisacáridos no digestibles por el huésped, pero, por otro lado, son los encargados de estimular la actividad de microorganismos benéficos en el sistema digestivo, lo que puede maximizar la ganancia en peso, la conversión alimenticia y la activación de la respuesta inmune. Los oligosacáridos de manano (MOS) han sido evaluados en varias especies de peces de importancia comercial. **Objetivos:** Determinar el efecto de diferentes niveles de MOS integrados en dietas balanceadas para juveniles de *Atractosteus tropicus* sobre el crecimiento, parámetros productivos, supervivencia, índices somáticos y actividad de enzimas digestivas. **Métodos:** Se evaluaron por triplicado seis dietas experimentales con inclusión de MOS (0.0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8%) y una dieta control de trucha (DC) durante 62 días. Se distribuyeron 180 juveniles (5.11 ± 0.08 g) en un sistema de recirculación con 18 tanques de 70 L con flujo de 10 L min^{-1} . **Resultados:** La supervivencia en todos los tratamientos fue superior al 96%. La dieta 0.2% de MOS presentó los valores más altos en peso ganado (WG), tasa específica de crecimiento (SGR) y tasa de eficiencia proteínica (PER), y el menor valor en tasa de conversión alimenticia (FCR). El índice hepatosomático (HSI) fue mayor para el tratamiento 0.4%, mientras que el índice viscerosomático fue mayor para los tratamientos 0.4% y 0.6%. Todas las actividades enzimáticas determinadas mostraron diferencias entre tratamientos (proteasa ácida, proteasa alcalina, tripsina, quimotripsina, leucina aminopeptidasa, carboxipeptidasas, lipasas, α -amilasa, fosfatases ácidas y fosfatases alcalinas).

Conclusiones: La suplementación de 0.2% de MOS en dietas para juveniles de *A. tropicus* genera beneficios en el crecimiento y el rendimiento productivo. La inclusión de MOS en dietas para juveniles de *A. tropicus* modifica los índices somáticos y la actividad de enzimas digestivas en juveniles.

Palabras clave: *Atractosteus tropicus*, crecimiento, enzimas digestivas, oligosacáridos de manano, prebióticos

ABSTRACT

Background: Prebiotics are polysaccharides that cannot be digested by the host; however, they generate benefits by stimulating the activity of beneficial microorganisms in the digestive system, which can maximize weight gain, feed conversion, and stimulate the immune response. Mannan oligosaccharides (MOS) have been evaluated in several fish species of commercial importance. **Goals:** Determine inclusion effects of different MOS levels in balanced diets for juveniles of *Atractosteus tropicus* on the growth, productive parameters, survival, somatic indexes, and activity of digestive enzymes. **Methods:** Six experimental diets including MOS (0.0, 0.2, 0.4, 0.6, and 0.8%) and a trout control diet (DC) were designed, manufactured, and evaluated in triplicate during 62 days. A hundred and eighty juveniles (5.11 ± 0.08 g) were distributed in a recirculation system with 18 tanks of 70 L with a flow of 10 L min^{-1} . **Results:** The 0.2% MOS diet produced the highest values in weight gained (WG), specific growth rate (SGR), and protein efficiency rate (PER) and the lowest value in feed conversion rate (FCR). Survival in all treatments was greater than 96%. The hepatosomatic index was higher for the 0.4% treatment, while the viscerosomatic index was higher for the 0.4% and 0.6% treatments. All the enzymatic activities (acid protease, alkaline protease, trypsin, chymotrypsin, leucine aminopeptidase, carboxypeptidas, lipases, α -amylase, acid phosphatases, and alkaline phosphatases) showed significant differences by the inclusion of MOS in the diet. **Conclusions:** Supplementation of 0.2% MOS in diets for juveniles of *A. tropicus*, generates benefits in growth and productive performance. The inclusion of MOS in diets for juveniles of *A. tropicus* modifies somatic indices and the activity of digestive enzymes of juveniles.

Keywords: *Atractosteus tropicus*, digestive enzymes, growth, mannan oligosaccharides, prebiotics

*Author for correspondence:
ocemyr@yahoo.com.mx

To cite as:

Nájera-Arzola I. C., C. A. Álvarez-González, C. A. Frías-Quintana, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, O. Méndez-Marín y E. Gisbert. 2018. Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). *Hidrobiológica* 28 (3): 239-246.

DOI:10.24275/uam/itz/dcbs/hidro/2018v28n3/
Peña

INTRODUCCIÓN

La acuacultura busca optimizar el rendimiento productivo, por lo cual es de gran relevancia la alimentación en las distintas etapas del cultivo de las diversas especies. La alimentación tiene un papel importante en la capacidad de asimilación de nutrientes en los organismos, lo que determina el estado de salud de los peces y, con ello, la capacidad de respuesta ante posibles enfermedades. Es así que la búsqueda de alternativas nutricionales que produzcan efectos favorables en el rendimiento productivo se torna necesaria, ya que de los costos totales, el 40-60% corresponden al costo de alimentación y el 10% al control y prevención de enfermedades (Uribe et al., 2011).

Debido a esto, el uso de alimentos con inclusión de ingredientes funcionales es relevante para el aumento productivo y para el reforzamiento del sistema inmune (Carbone & Faggio, 2016; Gürtepe et al., 2011). Dentro de estos alimentos se encuentran los probióticos, prebióticos y simbióticos (Akhter et al., 2015). Los oligosacáridos de manano (MOS) son derivados de las paredes celulares de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen, 1883), y son de los prebióticos más evaluados en peces (Hoseinifar et al., 2015); sin embargo, los resultados reportados han sido diversos, ya que en algunas especies la inclusión de MOS promueve el crecimiento, los parámetros digestivos y el sistema inmune (Gürtepe et al., 2011), mientras que en otras especies no genera efectos en crecimiento pero sí en la mejora del sistema inmune (Genc et al., 2007; Talpur et al., 2014). Debido a lo anterior, el objetivo del presente estudio es determinar si la inclusión de MOS en dietas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus* Gill, 1863) genera un efecto en el crecimiento, la supervivencia, los índices somáticos y la actividad de enzimas digestivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los juveniles. El presente estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Acuicultura Tropical de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (Dacbiol-UJAT). Un total de 180 juveniles de *A. tropicus* (4.64 ± 0.07 g) se obtuvieron del desove inducido de una hembra (3.5 kg) y tres machos (1.5 kg) por medio de una inyección intramuscular de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRHa 35 μg kg de pez⁻¹) en la aleta pélvica. Despues de la eclosión de los huevos (día 3 después de la fertilización), los eleuteroembriones se colocaron en tanques circulares de plástico de 70 L y se siguió un esquema de alimentación de acuerdo con informes anteriores (Frías-Quintana et al., 2010). Se realizó el cuidado de los organismos hasta llegar a la talla necesaria para ser utilizados en el bioensayo.

Diseño experimental. Se diseñó un experimento de una vía simple completamente aleatorizado con seis tratamientos experimentales, empleando diferentes niveles de inclusión de MOS (0.0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8 %) y un alimento balanceado para trucha (Silver Cup™) como dieta control (DC), los cuales fueron evaluados por triplicado.

Al iniciar el experimento se registró el peso (g) con una balanza digital portátil (Ohaus HH120, precisión 120 \pm 0.01 g, Shenzhen, China) y su longitud (cm) con una regla con precisión de 0.1 cm. Posteriormente, la biometría total de los organismos en experimentación se realizó cada 15 días. Para este experimento se ocuparon 180 juveniles (5.11 ± 0.08 g), los cuales se distribuyeron en 18 tanques circulares con 70 L de

agua, conectados a un sistema de recirculación con un reservorio de 1,500 L que funciona como sedimentador de sólidos y filtro biológico, además de una bomba de agua 1 HP (Jacuzzi, JWPA5D-230A, Delavan WI, USA) y un termostato de titanio (PSA, R9CE371, Delavan WI, USA). La calidad del agua del sistema fue monitoreada diariamente durante los 62 días registrando la temperatura (27.1 ± 0.8 °C) y el oxígeno disuelto (5.7 ± 0.2 mg L⁻¹) mediante un oxímetro (YSI 85, Ohio, USA), y el pH (7.3 ± 0.2) con un potenciómetro (HANNA HI 991001, Rumania). Se realizaron recambios de agua parciales de 50% cada dos días y recambios totales cada 5 días. Las dietas fueron proporcionadas 4 veces al día (8:00, 11:00, 14:00 y 17:00 horas) y se determinó el consumo de alimento por diferencia entre la cantidad de dieta suministrada de peso seco y la obtenida al secar de nuevo el alimento sobrante (que consistió en recolectar por sifoneo el sobrante de alimento). El alimento sobrante fue secado a la temperatura en que se elaboraron de dietas (pellets) en una estufa marca Fisher Scientific™ con temperatura controlada de 60 a 70 °C.

Formulación y elaboración de dietas experimentales. La formulación de las dietas experimentales se realizó por medio del programa Mixit Win V. 5.0, donde la dieta 0 % MOS se utilizó con base en la propuesta por Frías-Quintana et al. (2010), a la cual se le adicionó 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8% de MOS para la fabricación de las otras dietas experimentales (Tabla 1), y se utilizó el alimento comercial (Silver Cup™), con 45% de proteína y 16% de lípidos como dieta control (DC).

Para la elaboración de las dietas experimentales se siguió el protocolo propuesto por Álvarez-González et al. (2001). Los ingredientes se pesaron con ayuda de una balanza analítica con capacidad de 2,000 g (Ohaus, mod. CS2000, Greifensee, Suiza), a continuación, se mezclaron los macronutrientes en seco (harinas proteicas, almidón de maíz y harina de trigo) durante 15 minutos mediante una batidora industrial (Bathamex, 178716, México). Asimismo, se pesaron los micronutrientes (MOS, premezclas de vitaminas, minerales y vitamina C) y fueron agregados a la mezcla de los macronutrientes para revolverse por otros 15 minutos. Posteriormente, se pesaron los ingredientes líquidos (aceite de pescado y lecitina de soya), los cuales se añadieron a la mezcla anterior y se mezclaron por otros 15 minutos. Por último, se agregó el agua (aproximadamente 400 ml por K de dieta) y se mezcló durante otros 15 minutos. La mezcla final obtenida se colocó en un molino para carne 1 HP (Torrey, M-22RI, Monterrey, México) para obtener pellets con una criba de 5 mm, los cuales fueron secados en un horno (Coriat, HC-35-D, Cd. México, México) durante 12 horas a 60 °C. Las dietas fueron colocadas en bolsas de plástico selladas herméticamente y almacenadas a una temperatura de -20 °C, hasta su uso.

Sacrificio y toma de muestras de especímenes. Al término del experimento se realizó la última biometría para posteriormente sacrificar tres organismos por réplica, lo cual se realizó con un corte en la médula espinal en la parte posterior de la cabeza, enseguida se realizó un corte en la zona ventral para llevar a cabo la extracción de vísceras y registrar el peso de órganos, así como la extracción de órganos del tracto digestivo (estómago, ciegos pilóricos e intestino), para análisis de enzimas digestivas. Las muestras del tracto digestivo fueron congeladas a una temperatura de -80 °C hasta su tratamiento.

Índices de calidad del alimento y supervivencia. La supervivencia se determinó por medio del conteo del total de peces por réplica. Con base en los datos obtenidos de consumo y crecimiento de los juveniles de *A. tropicus*, se calcularon los siguientes índices: ganancia en peso

Tabla 1. Formulación de dietas experimentales para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus* Gill, 1863) con diferentes niveles de oligosacáridos de manano (MOS) (0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8%) y composición proximal.

Ingredientes g/100g (%)	MOS				
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8
Harina de sardina ^a	54.61	54.61	54.61	54.61	54.61
Aceite de sardina ^b	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4
Hidrolizado de pescado ^c	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Lecitina de soya ^d	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7
Almidón de maíz ^e	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25
Grenetina ^f	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Premezcla de vitaminas ^g	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Premezcla de minerales ^g	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamina C ^h	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Mos (Alltech) ⁱ	0	0.2	0.4	0.6	0.8
Harina de sorgo 8-10% ^j	26.01	25.90	25.70	25.50	25.30
Composición proximal (%)					
Energía (Kcal/g)	4.09 ± 0.01	4.16 ± 0.01	4.20 ± 0.02	4.18 ± 0.20	4.14 ± 0.17
Proteína	51.8 ± 0.3	51.6 ± 0.3	52.6 ± 0.3	52.4 ± 0.3	52.6 ± 0.3
Lípidos	12.9 ± 0.1	13.4 ± 0.1	14.1 ± 0.1	13.2 ± 0.1	13.7 ± 0.1
Fibra	16.1 ± 0.2	15.6 ± 0.3	14.9 ± 0.2	15.1 ± 0.1	16.3 ± 0.2
Ceniza	14.8 ± 0.1	13.9 ± 0.1	14.1 ± 0.1	14.6 ± 0.1	13.6 ± 0.1

^a Proteínas Marinas y Agropecuarias S. A. de C. V., Guadalajara, Jalisco; ^b GALMEX Comercializadora de Insumos Agrícolas S. A. de C. V., Villahermosa, Tabasco, México; ^c FERPAC; ^d Sigma-Aldrich núm. de catálogo F-8020; ^e Pronat Ultra, Mérida, Yucatán, México; ^f D'gari, Productos Alimenticios y Dietéticos Relámpago, S. A. de C. V., Tlalpan, Cd. de México; ^g Jalmek núm. de catálogo C5260-05; ^h Pedregal (para trucha Silver Cup), Toluca, Edo. de Mex. México; ⁱ Alltech Inc., Nicholasville, KY, USA; ^j GALMEX Comercializadora de Insumos Agrícolas S. A. de C. V., Villahermosa, Tabasco.

(WG) = [(peso final - peso inicial) / peso inicial] x 100; tasa de crecimiento específico (SGR) = [(Ln peso final - Ln peso inicial) / números de días] x 100; tasa de conversión alimenticia (FCR) = alimento consumido (g) / peso ganado (g); tasa de conversión proteica (PER) = peso ganado / proteína ingerida; supervivencia (SUR) = (núm. final de organismos / núm. inicial de organismos) x 100; factor de condición (CF)= [PC (g) / LC³ (cm)] x 100; índice hepatosomático (HSI)= (peso de hígado (g) x 100) / PC (g); índice viscerosomático (VSI) = (peso de víscera (g) x 100) / PC (g); índice somático intestinal (ISI)= (peso de intestino (cm) x 100) / PC (g). Donde, PC indica el peso corporal (g) y LC indica longitud total corporal (cm) del pez (Tabla 2).

Actividad enzimática digestiva. La obtención del extracto multienzimático se realizó a partir del estómago (fase ácida digestiva), el intestino y los ciegos pilóricos (fase alcalina digestiva) por medio del macerado de 30 mg de tejido húmedo por ml⁻¹ en cada réplica. Los intestinos y ciegos pilóricos fueron homogenados bajo condiciones frías (4 °C) con un Ultra-Turrax en solución Tris-HCl 50 mmol L⁻¹ a pH 9, y los estómagos fueron homogenados en solución glicina-HCl 50 mmol L⁻¹ a pH 2. Las muestras homogenadas fueron centrifugadas (12,000 RPM por 15 min a 4 °C) y el sobrenadante fue separado en alícuotas de 500 µL en tubos eppendorf que fueron congelados a -80 °C. La concentración de proteína soluble se evaluó con la técnica de Bradford (1976) al usar una curva estándar de albúmina bovina sérica (BSA). Para determinar la actividad de proteasas ácidas (pepsina) se utilizó el método de Anson (1938) con un sustrato de hemoglobina (0.5%) en buffer, Glicina-HCl 100 mmol L⁻¹ a pH 2 y 37 °C. La proteasa alcalina fue medida con la técnica de Walter (1984) en sustrato de caseína al 0.5% en buffer Tris-HCl 50 mmol L⁻¹, CaCl₂ 10 mmol L⁻¹ a pH 9 y 37 °C. El producto de la re-

acción para proteasas ácidas y alcalinas se midió a 280 nm. La unidad de actividad enzimática fue definida como 1 µg de tirosina liberada por minuto y se utilizó un coeficiente de extinción molar (CEM) de 0.005 ml µg⁻¹ cm⁻¹. La actividad de tripsina fue determinada por el método de Erlanger *et al.* (1961) con BAPNA (Na-Benzoyl-DL-Arginina- p -nitroanilida) 1mmol L⁻¹ como sustrato, disuelta en buffer Tris-HCl 50 mmol L⁻¹, CaCl₂ 10 mmol L⁻¹ a pH 8.2 y 37 °C. El producto de reacción fue medido a 410 nm. La unidad de actividad enzimática se definió como 1 µmol de p-nitroanilida liberada por minuto y se utilizó un CEM de 8,800 cm⁻¹ M⁻¹. La actividad quimotripsina se determinó con el método de Del Mar *et al.* (1961) con BTEE (N-benzoyl-L-tirosina etil éster) 0.56 mmol L⁻¹ en buffer Tris-HCl 44.4 mmol L⁻¹, CaCl₂ 55.5 mmol L⁻¹ a pH 7.8 y 37 °C. El producto de reacción fue medido a 256 nm y la unidad de actividad enzimática se definió como un 1 mol de BTEE hidrolizado por minuto, con un CEM de 964 cm⁻¹ M⁻¹. La actividad leucina aminopeptidasa se determinó por el método de Maraix *et al.* (1973) con L-leucina-p-nitroanilida 1.2 mmol L⁻¹ como sustrato en buffer fosfato sódico 50 mmol L⁻¹ a pH 7.2 y 37 °C. El producto de reacción fue medido a 410 nm y la unidad de actividad enzimática se definió como 1 µmol de p-nitroanilida liberada por minuto, con un CEM de 8,800 cm⁻¹ M⁻¹. La actividad Carboxipeptidasa A se determinó por el método de Folk & Schirmer (1963), con Hypuryl-L-phenyl-alanine 25 mmol L⁻¹ como sustrato en buffer de Tris-HCl 50 mmol L⁻¹, NaCl 25 mmol L⁻¹, a pH 7.5 y 25 °C. El producto de reacción fue medido a 254 nm y la unidad de actividad enzimática fue definida como 1 µmol de ácido hipúrico liberado por minuto, con un CEM de 0.36 cm⁻¹ M⁻¹. La actividad α-amilasa se determinó por el método de Robyt & Whelan (1968) con almidón al 2% como sustrato en buffer citrato-fosfato 100 mmol L⁻¹, NaCl 50 mmol L⁻¹, pH 7.5 y 37°C.

El producto de reacción fue medido a 600 nm y la unidad de actividad enzimática fue definida como 1 µg de maltosa por minuto, donde se utilizó un CEM de 3,400 cm⁻¹ M⁻¹. La actividad lipasa se determinó por el método de Versaw *et al.* (1989), con β-naftil caprilato 200 mmol L⁻¹ como sustrato en buffer Tris-HCl 50 mmol L⁻¹ con tauracolato de sodio 100 mmol L⁻¹ a pH 7.5 y 25 °C. El producto de reacción fue medido a 540 nm y la unidad de actividad enzimática fue definida como 1 µg de naftol liberado por minuto, con un CEM de 0.02 cm⁻¹M⁻¹.

Las actividades de fosfatasa ácida y alcalina se determinaron por el método de Bergmeyer (1974), con 4-nitrofenilfosfato al 2.04% para fosfatases ácidas en buffer de ácido cítrico y citrato de sodio (1:1 p/p) 0.1 mmol L⁻¹ a pH 5.5, y buffer de glicina NaOH 0.1 mmol L⁻¹ a pH 10.1 para fosfatases alcalinas. El producto de reacción fue medido a 405 nm y la unidad de actividad enzimática fue definida como 1 mg de nitrofenol liberado por minuto, donde se utilizó un CEM de 18.5 cm⁻¹M⁻¹.

La actividad enzimática de los extractos se determinaron usando las siguientes ecuaciones: 1) Unidades por ml (U ml⁻¹) = [Δabs x volumen final de reacción (ml)] [CEM x tiempo (min) x volumen del extracto (ml)]⁻¹; 2) Unidades por mg de proteína⁻¹ (U mg proteína⁻¹) = U ml⁻¹/mg de proteína soluble; El Δabs representa el incremento de absorbancia a la longitud de onda de cada técnica.

Análisis estadístico. Los datos de peso, longitud, parámetros productivos, índices somáticos y actividad enzimática fueron evaluados para los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En caso de cumplir los supuestos, se realizó un ANOVA de una vía y una prueba *a posteriori*

de Tukey. En caso de no cumplir con los supuestos, se realizó un análisis de Kruskal-Wallis y la prueba *a posteriori* de Nemenyi. Todas las pruebas se realizaron con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ en el programa estadístico Sigma Plot 11.0.

RESULTADOS

Evaluación de crecimiento. Los organismos alimentados con la dieta de 0.2% MOS presentaron el mayor crecimiento de todas las dietas ($p \leq 0.05$), con un peso total de 27.04 ± 0.33 g y una talla de 19.11 ± 0.19 cm, mientras que los organismos alimentados con la dieta control obtuvieron el menor crecimiento ($p \leq 0.05$), con 13.07 ± 0.51 g y una talla de 15.58 ± 0.18 cm (Figs. 1a-b).

Índices de calidad del alimento y supervivencia. Los índices de rendimiento productivo e índices somáticos se muestran en la Tabla 2. Los peces alimentados con la dieta de 0.2% MOS presentaron los valores más altos en WG, SGR, PER (374.0 ± 3.6, 2.59 ± 0.01 y 1.26 ± 0.04, respectivamente) y el valor más bajo en FCR (1.48 ± 0.05) ($p \leq 0.05$). Los resultados del índice hepatosomático mostraron el mayor valor para peces alimentados con dieta de 0.2% MOS, mientras que los valores más altos de índice viscerosomático se presentaron en peces alimentados con dietas de 0.2% y 0.4% MOS con 7.12 ± 0.95 y 7.08 ± 0.81 , respectivamente ($p \leq 0.05$). Los resultados de supervivencia, factor de condición, e índice somático intestinal no mostraron diferencias entre los tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 2. Índices de rendimiento productivo e índices somáticos en juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus* Gill, 1863) alimentados con dietas experimentales con diferentes niveles de oligosacáridos de manano (MOS) (0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8 %)

Índices	MOS					DC
	0%	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
WG (%)	307.4 ± 10.4 ^b	374.0 ± 3.6 ^a	261.8 ± 0.5 ^b	254.5 ± 1.6 ^b	291.9 ± 8.1 ^b	143.3 ± 7.0 ^c
SGR (%/día ⁻¹)	2.34 ± 0.04 ^b	2.59 ± 0.01 ^a	2.18 ± 0.00 ^b	2.18 ± 0.01 ^b	2.28 ± 0.03 ^b	1.48 ± 0.05 ^c
FCR	1.57 ± 0.06 ^c	1.48 ± 0.05 ^d	1.62 ± 0.34 ^b	1.59 ± 0.17 ^c	1.57 ± 0.17 ^c	2.67 ± 0.06 ^a
PER	1.19 ± 0.04 ^b	1.26 ± 0.04 ^a	1.14 ± 0.34 ^d	1.17 ± 0.17 ^b	1.18 ± 0.17 ^c	0.7 ± 0.06 ^e
SUR (%)	100 ± 0.0	96.6 ± 5.7	96.6 ± 5.7	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0
CF	0.35 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.05	0.32 ± 0.05
HSI	2.76 ± 0.32 ^{ab}	3.06 ± 0.35 ^{ab}	3.64 ± 0.70 ^a	3.19 ± 0.44 ^{ab}	2.66 ± 0.43 ^b	2.94 ± 0.41 ^{ab}
VSI	5.93 ± 0.62 ^b	6.28 ± 0.62 ^{ab}	7.12 ± 0.95 ^a	7.08 ± 0.81 ^a	6.39 ± 0.82 ^{ab}	7.31 ± 0.69 ^a
ISI	1.11 ± 0.36	1.18 ± 0.30	1.23 ± 0.25	1.21 ± 0.27	1.14 ± 0.26	1.16 ± 0.32

Letras diferentes significan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Ganancia en peso (WG) = [(peso final – peso inicial) / peso inicial] × 100

Tasa de crecimiento específica (SGR) = [(Ln peso final - Ln peso inicial) / números de días] × 100

Tasa de conversión alimenticia (FCR) = alimento consumido (g) / peso ganado (g)

Tasa de conversión proteica (PER) = peso ganado / proteína ingerida

Supervivencia (SUR) = núm. final de organismos / núm. inicial de organismos) × 100

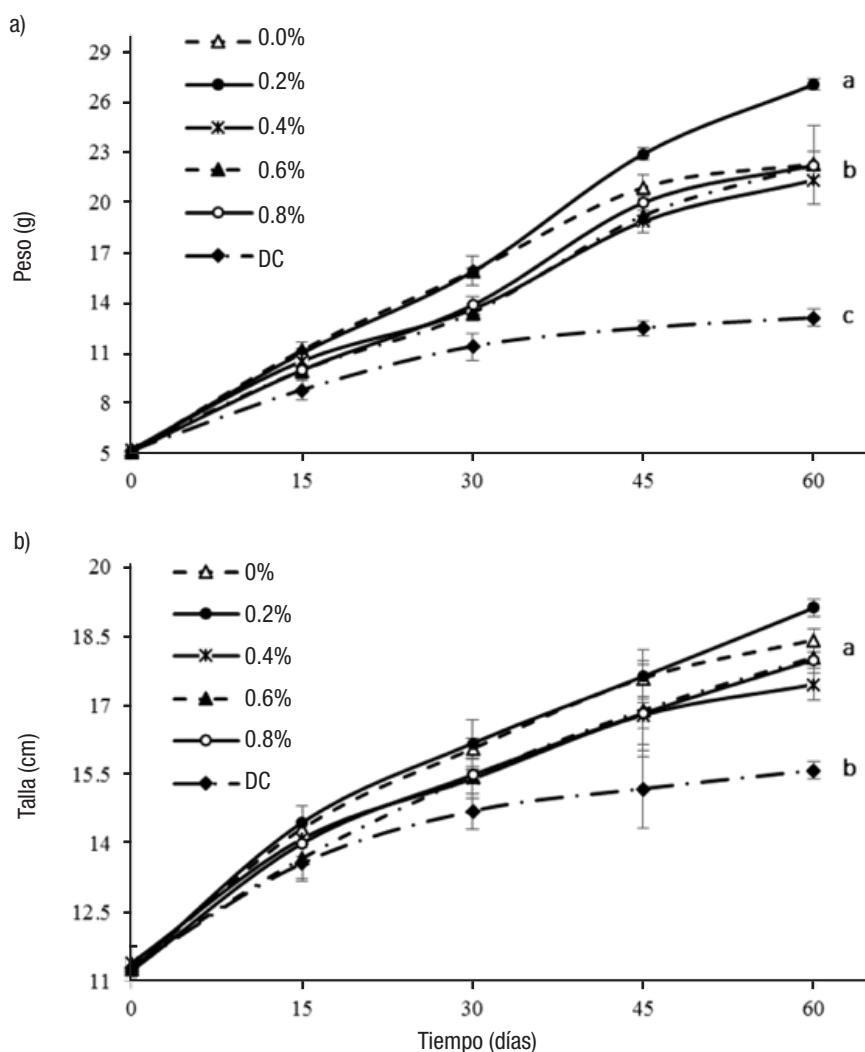
Factor de condición (CF) = [PC (g)/LC³ (cm)] × 100

Índice hepatosomático (HSI) = peso de hígado (g) × 100/ PC (g)

Índice Viscerosomático (VSI) = peso de víscera (g) × 100/ PC (g)

Índice somático intestinal (ISI) = Peso de intestino (cm) × 100/ PC (cm)

Donde, PC indica el peso corporal (g) y LC indica longitud total corporal (cm) del pez.



Figuras 1a-b. Crecimiento en peso y longitud de juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus* Gill, 1863) alimentados con dietas experimentales con diferentes niveles de oligosacáridos de manano (0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8 %); a) Curva de crecimiento en peso (g ± DE); b) Curva de crecimiento en longitud (cm ± DE). Las letras minúsculas significan diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

Actividad de enzimas digestivas. Los resultados en la actividad de enzimas digestivas (Tabla 3) muestran diferencias en la actividad específica de todas las enzimas medidas ($p \leq 0.05$). Los resultados de la actividad de proteasas ácidas presentaron un mayor valor en peces alimentados con dietas de 0.4%, 0.6% y 0.8% MOS con 28.13 ± 0.73 , 25.75 ± 0.68 y 25.95 ± 1.55 U/mg proteína $^{-1}$, respectivamente ($p \leq 0.05$). La actividad de proteasas alcalinas mostró un mayor valor en peces alimentados con dietas de 0.2%, 0.4% y 0.6% % MOS con 81.27 ± 0.48 , 81.36 ± 1.80 y 77.26 ± 1.69 U/mg proteína $^{-1}$, respectivamente ($p \leq 0.05$). Por otro lado, la mayor actividad de tripsina, lipasa y α -amilasa fue mayor en los peces alimentados con dieta de 0.4% MOS con 0.614 ± 0.02 , 55.24 ± 0.28 y 8.75 ± 0.14 U/mg proteína $^{-1}$, respectivamente ($p \leq 0.05$). La actividad de quimotripsina registró un mayor valor en peces alimentados con la dieta de 0% MOS con 86.55 ± 0.73 U/mg proteína $^{-1}$ ($p \leq 0.05$). En cambio, la actividad de leucina amiopeptidasa mostró un mayor valor en peces alimentados con la dieta de 0.6 % MOS con 0.645 ± 0.05 U/mg proteína $^{-1}$ ($p \leq 0.05$). La actividad

de carboxipeptidasas presentó un mayor valor en peces alimentados con dietas 0.6% MOS y DC con 0.471 ± 0.01 y 0.450 ± 0.02 U/mg proteína $^{-1}$, respectivamente ($p \leq 0.05$). Por último, los mayores valores de actividad de fosfatases ácidas y fosfatases alcalinas se encontraron en peces alimentados con dieta DC, con 0.357 ± 0.01 y 0.636 ± 0.12 U/mg proteína $^{-1}$, respectivamente ($p \leq 0.05$).

DISCUSIÓN

Los efectos de la suplementación dietaria de oligosacáridos de manano en peces han sido ampliamente estudiados, con varios parámetros de respuesta medidos, como crecimiento, supervivencia, índices productivos (SGR, FCR, PER), índices somáticos (CF, HSI, VSI, ISI), digestibilidad de nutrientes, actividad de enzimas digestivas, histopatología de hígado e intestino, respuesta inmune y hematología, entre otros. Lo anterior, con el fin de demostrar respuestas específicas según la especie y la etapa de vida.

Tabla 3. Actividad de enzimas digestivas en juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus* Gill, 1863) alimentados con diferentes niveles de oligosacáridos de manano (MOS) (0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8 %).

Actividad (U mg proteína ⁻¹ ; mU mg proteína ^{-1*})	MOS						DC
	0 %	0.2 %	0.4 %	0.6 %	0.8 %		
Proteasa ácida	23.87 ± 1.02 ^b	21.09 ± 1.01 ^c	28.13 ± 0.73 ^a	25.75 ± 0.68 ^a	25.95 ± 1.55 ^a	17.32 ± 0.99 ^d	
Proteasa alcalina	67.16 ± 1.23 ^b	81.27 ± 0.48 ^a	81.36 ± 1.80 ^a	77.26 ± 1.69 ^a	69.67 ± 0.67 ^b	27.63 ± 2.39 ^c	
Tripsina	0.52 ± 0.004 ^b	0.46 ± 0.04 ^b	0.614 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.03 ^b	0.354 ± 0.01 ^b	0.27 ± 0.03 ^c	
Quimotripsina	86.55 ± 0.73 ^a	51.24 ± 0.4 ^b	22.06 ± 0.68 ^c	10.13 ± 0.50 ^d	8.86 ± 0.21 ^{de}	7.96 ± 0.11 ^e	
LAP	0.122 ± 0.01 ^c	0.422 ± 0.02 ^b	0.389 ± 0.01 ^b	0.645 ± 0.05 ^a	0.465 ± 0.01 ^b	0.373 ± 0.06 ^b	
Carboxipeptidasa	0.223 ± 0.01 ^d	0.191 ± 0.01 ^e	0.269 ± 0.01 ^c	0.471 ± 0.01 ^a	0.371 ± 0.01 ^b	0.450 ± 0.02 ^a	
Lipasa	44.96 ± 1.16 ^b	44.33 ± 0.45 ^b	55.24 ± 0.28 ^a	22.62 ± 0.43 ^c	25.57 ± 1.15 ^c	19.50 ± 3.33 ^c	
α-amilasa	7.93 ± 0.20 ^b	6.34 ± 0.09 ^c	8.75 ± 0.14 ^a	6.08 ± 0.22 ^c	5.45 ± 0.48 ^c	3.08 ± 0.02 ^d	
Fosfatasa ácida*	0.198 ± 0.01 ^b	0.145 ± 0.01 ^c	0.197 ± 0.02 ^b	0.226 ± 0.01 ^b	0.153 ± 0.01 ^c	0.357 ± 0.01 ^a	
Fosfatasa alcalina*	0.306 ± 0.02 ^b	0.248 ± 0.01 ^c	0.403 ± 0.03 ^b	0.244 ± 0.01 ^c	0.313 ± 0.04 ^b	0.636 ± 0.12 ^a	

Letras diferentes significan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Ganancia en peso (WG) = [(peso final – peso inicial) / peso inicial] × 100

Tasa de crecimiento específica (SGR) = [(Ln peso final - Ln peso inicial) / números de días] × 100

Tasa de conversión alimenticia (FCR) = alimento consumido (g) / peso ganado (g)

Tasa de conversión proteica (PER) = peso ganado / proteína ingerida

Supervivencia (SUR) = númer. final de organismos / númer. inicial de organismos) × 100

Factor de condición (CF) = [PC (g)/LC³ (cm)] × 100

Índice hepatosomático (HSI) = peso de hígado (g) x 100/ PC (g)

Índice Viscerosomático (VSI) = peso de víscera (g) x 100/ PC (g)

Índice somático intestinal (ISI) = Peso de intestino (cm) x 100/ PC (cm)

Donde, PC indica el peso corporal (g) y LC indica longitud total corporal (cm) del pez.

En el presente trabajo, los juveniles de *A. tropicus* alimentados con dieta de 0.2 % MOS presentaron mayor crecimiento en peso y longitud, así como un mayor aprovechamiento de alimento y proteína (FCR y PER). Se han reportado resultados similares para la dorada (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) (Gültepe et al., 2011); sin embargo, otros resultados indican que la adición de MOS en el rango de 0.05% a 0.4% no promueve efectos significativos en el crecimiento de peces como tilapia híbrida (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758; X *O. aureus* Steindachner, 1864) (Genc et al., 2007), bagre de canal (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818) (Peterson et al., 2010), pez beta (*Betta splendens* Regan, 1910) (Vieira de Azevedo et al., 2016), carpa común (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) (Momeni-Moghaddam et al., 2015), esturión gigante (*Huso huso* Linnaeus, 1758) (Mansour et al., 2012) y cabeza de serpiente (*Channa striata* Bloch, 1793) (Talpur et al., 2014). No obstante, en algunas de las especies antes mencionadas, se observa un efecto positivo en parámetros de resistencia del sistema inmune, lo que resalta principalmente el beneficio de MOS como inmunoestimulantes y, a su vez, genera la necesidad de realizar estudios sobre sus efectos inmunoestimulantes en juveniles de *A. tropicus*.

Los resultados del presente estudio muestran diferencias entre tratamientos para el índice hepatosomático y el índice viscerosomático; dado que fueron mayores en los peces alimentados con la dieta de 0.2% MOS. En contraste con estos resultados, estudios en la dora-

da (*Sparus aurata*) muestran una disminución del HSI en organismos alimentados con 0.2% y 0.4% MOS (Dimitroglou et al., 2010), mientras que estudios en tilapia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) muestran que la inclusión de 0.15, 0.3 y 0.45 % MOS no causa un efecto en el HSI y el VSI (Genc et al., 2007). La relación del peso del hígado con respecto al peso corporal depende del estado metabólico del organismo, donde los hígados de mayor tamaño representan la presencia de reservas energéticas de glicógeno y lípidos (Polakof et al., 2012). Lo cual quiere decir que los juveniles de *A. tropicus* alimentados con la dieta de 0.2% MOS generan un aumento en las reservas energéticas hepáticas como posible reflejo del cambio del metabolismo de glucosa y lípidos. Sin embargo, es necesario realizar más estudios sobre composición hepática, así como cortes histológicos para poder aseverar la acumulación de reservas energéticas, así como caracterizar posibles modificaciones morfológicas de dicho tejido.

La importancia biológica de las enzimas digestivas reside en que son las encargadas de convertir los macronutrientes (proteínas, carbohidratos y lípidos) en micronutrientes (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos), para que los últimos puedan ser absorbidos con mayor facilidad por los enterocitos intestinales y así ser utilizados para los diferentes procesos bioquímicos y metabólicos de los organismos (Guillaume et al., 2004). Aunque los prebióticos son alimentos indigestibles

para el hospedero, también son aditivos que funcionan como sustrato selectivo para algunos microorganismos, lo cual puede resultar benéfico para el hospedero, ya que limita la colonización de otro tipo de bacterias con potencial patógeno en el tracto digestivo (lo que altera significativamente la microbiota) y genera un aumento en la digestibilidad de nutrientes y cambios histológicos en los tejidos involucrados (Gibson and Roberfroid, 1995). En el presente trabajo se determinó la actividad de enzimas digestivas de origen pancreático e intestinal, y los resultados indican que la inclusión de MOS en dietas para juveniles de *A. tropicus* modifica la actividad específica de casi todas las enzimas digestivas medidas, sin mostrar relación directa con el tratamiento que mostró mejor crecimiento. Reportes en corvina roja (*Sciaenops ocellatus* Linnaeus, 1766), lobina rayada (*Morone chrysops* Rafinesque, 1820 x *M. saxatilis* Walbaum, 1792) y dorada (*S. aurata*), muestran que no necesariamente la asimilación de los nutrientes es generada por un aumento en la actividad de enzimas digestivas, ya que los cambios estructurales en el tracto gastrointestinal (acrecencia de área de microvellosidades) se encuentran relacionados con el incremento de la capacidad de absorción, debido al aumento en el área superficie de la membrana borde cepillo (Dimitroglou *et al.*, 2010; Anguiano *et al.*, 2012). Dicho lo anterior, es necesario reunir esfuerzos para evaluar los posibles cambios morfológicos en la membrana borde cepillo en juveniles de *A. tropicus* alimentados con dietas suplementadas con MOS, no solo en la dieta de 0.2% MOS, sino también en los demás tratamientos, esto con el fin de entender por qué se generó una disminución de crecimiento en los tratamientos con mayor inclusión de MOS.

En conclusión, los resultados indican que la suplementación de un 0.2% de oligosacáridos de manano en la dieta para juveniles de *A. tropicus* genera mejoras de crecimiento en peso y talla, en la tasa de crecimiento específica, en la tasa de conversión alimenticia y en la tasa de eficiencia proteica. La inclusión de MOS en diferentes niveles sí generó efectos sobre índice hepatosomático, índice viscerosomático y actividad de enzimas digestivas. Por consiguiente, es necesario generar estudios sobre los efectos de la inclusión de MOS en el sistema inmune, así como en los efectos histológicos en hígado e intestino, con el objetivo de entender los mecanismos de tales efectos sobre juveniles de *A. tropicus*.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt), por el apoyo económico otorgado mediante la beca nacional para estudios de maestría (CVU 666819) y la beca para la estancia de investigación internacional (Becas Mixtas) de Isabel C. Nájera Arzola. Al proyecto denominado Fortalecimiento de la Maestría en Ciencias Ambientales para su permanencia en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad del Conacyt, Clave: TAB-2014-C29-245836, por el apoyo para la realización de la estancia de investigación en el Institut D'investigació Agroalimentària de la Generalitat de Catalunya (IRTA, España), como parte de la red temática CYTED (117RT0521) de estrategias de desarrollo y mejora de la producción de larvas de peces en Iberoamérica (LARVAplus). Este estudio fue financiado por el proyecto Investigación Científica Básica 2016, # 282765 de Conacyt.

REFERENCIAS

- AKHTER, N., B. WU, A. M. MEMON & M. MOHSIN. 2015. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. *Fish & Shellfish Immunology* 45: 733-741.
- ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C. A., R. CIVERA-CERECEDO, J. L. ORTIZ-GALINDO, S. DUMAS, M. MORENO-LEGORRETA & T. GRAYEB-DEL ALAMO. 2001. Effect of dietary protein level on growth and body composition of juvenile spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, fed practical diets. *Aquaculture* 194: 151-159.
- ANGUIANO, M., C. POHLENZ, A. BUENTELLO & D.M. GATLIN. 2013. The effects of prebiotics on the digestive enzymes and gut histomorphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) and hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *British Journal of Nutrition* 109 (4): 623-629.
- ANSON, M. L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of General Physiology* 22: 79-89.
- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- BERGMAYER, H. U. 1974. *Phosphatases: Methods of enzymatic analysis*, Vol. 2. Academic Press, New York, pp. 1196-1201.
- CARBONE, D & C. FAGGIO. 2016. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish and Shellfish Immunology* 54: 172-178. DOI: [10.1016/j.fsi.2016.04.011](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.04.011)
- DEL MAR, E. G., C. LARGMAN, J. BRODRICK & M. GEOKAS. 1979. A sensitive new substrate for chymotrypsin. *Analytical Biochemistry* 99 (3): 16-320.
- DIMITROGLOU, A., D. L. MERRIFIELD, P. SPRING, J. SWEETMAN, R. MOATE & S. J. DAVIES. 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 300: 182-188.
- ERLANGER, B., N. KOKOWSKY & W. COHEN. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 95: 271-278.
- FRÍAS-QUINTANA, C. A., C. A. ÁLVAREZ-GONZÁLEZ & G. MÁRQUEZ-COUTURIER. 2010. Diseño de microdietas para el larvicultivo de pejelagarto *Atractoscionus tropicus*, Gill 1863. *Universidad y Ciencia* 26 (3): 265-282.
- FOLK, J. & E. SCHIRMER. 1963. The porcine pancreatic carboxypeptidase A System. I. Three forms of the active enzyme. *The Journal of Biological Chemistry* 238: 38-84.
- GENC, M. A., E. YILMAZ, E. GENC & M. AKTAS. 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharides (MOS) on growth, body composition, and intestine and liver histology of the hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). *The Israeli Journal of Aquaculture* 59: 10-16.

- GIBSON, G. R. & M. B ROBERFROID. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125: 1401-1412.
- GUILLAUME, J., S. KAUSHIK & P. BERGOT. (eds) 2004. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Mundi-Prensa. 471p.
- GÜLTEPE, N, S. SALNUR, B. HOŞSU, B. & O. HISAR. 2011. Dietary supplementation with Mannan oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition* 17: 482-487.
- HOSEINIFAR, S. H., M. A. ESTEBAN, A. CUESTA & Y-Z. SUN. 2015. Prebiotics and fish immune response: a review of current knowledge and future perspectives. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 23: 315-328.
- MANSOUR, M. R., R. AKRAMI, S.H. GHOBADI, K. A. DENJI, N. EZATRAHIMI & A. GHAREI. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish Physiology and Biochemistry* 38: 829-835. DOI: [10.1007/s10695-011-9570-4](https://doi.org/10.1007/s10695-011-9570-4)
- MARAUX, S., D. LOUARD & J. BARATTI. 1973. The aminopeptidase from hog-intestinal brush border. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 321: 282-295.
- MOMENI-MOGHADDAM, P., S. KEYVANSHOKOOGH, S. ZIAEI-NEJAD, A. P. SALATI & H. PASHA-ZANOOSI. 2015. Effects of mannan oligosaccharide supplementation on growth, some immune responses and gut lactic acid bacteria of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Veterinary Research Forum* 6 (3): 239-244.
- POLAKOF, S., S. PANERAT, J. L. SOENGAS, & T. W. MOON. 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B* 182 (8): 1015-1045. DOI: [10.1007/s00360-012-0658-7](https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7)
- PETERSON, B. C., T. C. BRAMBLE & B. B. MANNING. 2010. Effects of Bio-Mos on growth and survival of channel catfish challenged with *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of the World Aquaculture Society* 41: 149-155.
- ROBYT, J. F. & W. WHELAN. 1968. Amylases. In: Radley, J. A. (ed). *Starch and its Derivatives*. Chapman and Hall, England, pp. 430-476.
- TALPUR, A. D., M. B. MUNIR, A. MARRY & R. HASHIM. 2014. Dietary probiotics and prebiotics improved food acceptability, growth performance, haematology and immunological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in snakehead (*Channa striata*) fingerlings. *Aquaculture journal* 426-427: 14-20.
- URIBE, C., H. FOLCH, R. ENRIQUEZ & G. MORÁN. 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinarni Medicina* 56 (10): 486-503.
- VERSAW, W., S. L. CUPPETT, D. D. WINTERS & L. E. WILLIAMS. 1989. An improved colorimetric assay for bacterial lipase in nonfat dry milk. *Journal of Food Science* 54: 232-254.
- VIEIRA DE AZEVEDO, R., D. K. DA SILVA-AZEVEDO, J. M. DOS SANTOS-JÚNIOR, J. C. FOSSE-FILHO, D. RICARDO DE ANDRADE, L. G. TAVARES-BRAGA & M. V. VIDAL-JÚNIOR. 2016. Effects of dietary mannan oligosaccharide on the growth, survival, intestinal morphometry and nonspecific immune response for Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910) larvae. *Latin American Journal of Aquatic Research* 44 (4): 800-806. DOI: [10.3856/vol44-issue4-fulltext-15](https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-15)
- WALTER, H. E. 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H. J. (ed). *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. V, Verlag Chemie. Weinham, pp. 270-277.

Factores de riesgo asociados a la transmisión del virus PaV1 en langostas *Panulirus argus* en dos principales zonas de pesca del estado de Yucatán, México

Risk factors associated with the transmission of the PaV1 virus in spiny lobsters, *Panulirus argus*, from two main fishing areas in the state of Yucatan, Mexico

Ruth A. A. Pérez-Campos¹®, Cristina Pascual-Jiménez²®, Nancy Herrera-Salvatierra¹®, Juan A. Pérez-Vega¹, Roberto Zamora-Bustillos³
y Rossanna Rodríguez-Canul^{1*}®

Recibido: 17 de mayo de 2017.

Aceptado: 11 de septiembre de 2018.

Publicado: 05 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: El virus PaV1 causa infección crónico-degenerativa y mortal en langostas espinosas *Panulirus argus*. PaV1 está presente en langostas del Caribe mexicano, pero se desconoce su prevalencia en el estado de Yucatán, importante exportador de colas de langosta. **Objetivos:** Conocer la prevalencia y factores de riesgo del virus PaV1 en langostas subadultas y adultas, destinadas a la comercialización, de acuerdo con su zona de captura. **Métodos:**

En un muestreo realizado en dos cooperativas se analizaron 496 muestras de tejido intestinal (cerca de la región anal) de langostas provenientes de río Lagartos y del arrecife Alacranes. Se analizaron con una PCR simple que amplifica un fragmento de 499 pb del ADN genómico de PaV1. Se utilizó la prueba χ^2 y regresión logística para determinar diferencias entre zonas de muestreo, talla (subadultas y adultas), sexo y estado de muda. **Resultados:** La prevalencia fue de 2.62% (13/496). La secuencia de ADN de PaV1 tuvo 100 % de homología y cobertura con la original en GenBank. La prevalencia fue de 4.73% en río Lagartos y de 1.53% en Arrecife Alacranes ($\chi^2 = 4.28, p = 0.0038$). Las langostas subadultas tuvieron mayor prevalencia (3.96 %) que las adultas (1.7%) ($\chi^2 = 9.62, p = 0.0081$). El análisis de regresión logística estimó que las variables regresoras (talla de las langostas y zona de muestreo) mostraron relación significativa con la infección por PaV1. **Conclusiones:** Este es el primer reporte de detección de ADN de PaV1 en colas de *P. argus* del estado de Yucatán destinadas a la comercialización y exportación.

Palabras clave: pesquería artesanal, *Panulirus argus*, PaV1, península de Yucatán

ABSTRACT

Background: The virus *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1) causes a systemic infection and death to spiny lobsters *Panulirus argus* (Latreille, 1804). PaV1 is prevalent in the Mexican Caribbean Sea, but there is no information about its prevalence in the state of Yucatan. **Goals:** To determine the prevalence of PaV1 in lobster tails from two main fishing zones from the state of Yucatan. **Methods:** Four hundred and ninety-six intestinal tissue samples were collected from lobster tails collected in río Lagartos and from Alacranes Reef. Around 50 mg of intestinal tissue were stored and analyzed individually by PCR, which amplifies a fragment of 499 bp of genomic DNA of PaV1. The χ^2 test and a logistic regression analysis were used to determine the differences between sampling zones, size (sub-adult and adult), sex, and molt status. **Results:** A prevalence of 2.62% (13/496) was obtained. The PaV1 DNA sequence had 100% of homology and identity to the original DNA sequence reported in the GenBank. In río Lagartos the prevalence was of 4.73% and of 1.53% in Alacranes Reef ($\chi^2 = 4.28, p = 0.0038$). Significant differences were found between lobster sizes; PaV1 was more prevalent in sub-adults (3.96%) than adults (1.7%) ($\chi^2 = 9.62, p = 0.0081$). The logistic regression analysis revealed that lobster's size and catching zone had a high significance with PaV1. **Conclusions:** This is the first molecular detection of PaV1 in tails of lobsters *P. argus* from the Yucatan state destined for marketing and exportation.

Keywords: artisanal fisheries, *Panulirus argus*, PaV1, Yucatán peninsula

INTRODUCCIÓN

La langosta espinosa del Caribe *Panulirus argus* (Latreille, 1804) constituye uno de los recursos de mayor importancia económica para las pesquerías de la región del Gran Caribe (Ehrhardt *et al.*, 2010). Su comercialización sitúa a México en el séptimo lugar a nivel mundial (Puga, 2002), donde los estados de Yucatán y Quintana Roo son los que participan con el 35% de su captura nacional (Salas *et al.*, 2005).

En 1994 se descubrió en los Cayos de la Florida, EUA, el primer virus que infecta a la langosta espinosa *P. argus*, denominado *Panulirus argus* virus 1 (PaV1, por sus siglas) (Shields & Behringer, 2004). Este es un virus de doble cadena de ADN que se encuentra aún sin clasificación, pero comparte características de las familias Herpesviridae e Iridoviridae. PaV1 es altamente patogénico y mortal; infecta principalmente a juveniles bentónicos [20–55 mm de longitud de la cola (LC)], en los cuales se observa prevalencia de hasta 60%, la cual decrece hasta 11 % en langostas adultas (Shields & Behringer, 2004). En México, el virus PaV1 se reportó por primera vez en langostas juveniles de Puerto Morelos, Quintana Roo (Huchín-Mian *et al.*, 2008). Este virus produce una infección crónico-degenerativa que se caracteriza por la destrucción masiva de los hemocitos hialinocitos y semigranulocitos, la falta de coagulación en la hemolinfa, el daño estructural irreversible en el tejido hepatopancreático y una marcada coloración lechosa de la hemolinfa (Shields & Behringer, 2004; Li *et al.*, 2008; Huchin-Mian *et al.*, 2013). En el hepatopáncreas se observan nucleocapsides icosaédricas ($\sim 182 \pm 9$ nm) distribuidas en el citoplasma y la periferia nuclear de las células. Asimismo, en las células epiteliales se detectan inclusiones virales eosinofílicas (Cowdry tipo A), caracterizadas con cromatina y proteínas condensadas en el citoplasma, además de hipertrofia nuclear observada por microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Shields & Behringer, 2004). Las langostas con infecciones severas presentan una notable falta de reservas de glucógeno, letargia e isquemia tisular del hepatopáncreas, que conlleva a su muerte por agotamiento metabólico (Li *et al.*, 2008).

Una de las características de la infección viral (PaV1) es que su prevalencia es mayor en tallas pequeñas de langostas y va disminuyendo en tallas más grandes (subadultas y adultas) (Lozano-Álvarez *et al.*, 2008; Behringer *et al.*, 2011; Cruz-Quintana *et al.*, 2011; Moss *et al.*, 2013). De igual forma, disminuyen también los signos clínicos; por lo que, si se utilizan solamente los signos clínicos para identificar la prevalencia del virus en adultas y subadultas, este valor estaría subestimado.

La presencia de PaV1 se ha reportado en México (Huchin-Mian *et al.*, 2008; Lozano-Álvarez *et al.*, 2008), en las Islas Vírgenes, Estados Unidos (Butler *et al.*, 2008), en Belice (Huchin-Mian *et al.*, 2009) y en Cuba (Cruz Quintana *et al.*, 2011), a través de análisis histológicos del hepatopáncreas y por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa o PCR (por sus siglas en inglés, *polymerase chain reaction*) en organismos juveniles con prevalencias del 5 al 60% (Behringer *et al.*, 2011). Mientras que en langostas adultas se ha reportado hasta 11% de prevalencia (Behringer *et al.*, 2012), 9.2% en Belice (Huchin-Mian *et al.*, 2013) y 0.95 % en Cuba (Cruz-Quintana *et al.*, 2011). El virus PaV1 está muy extendido en las langostas adultas en la parte central y norte del mar Caribe; en cambio, tiene una baja prevalencia en el Caribe suroccidental y está ausente en la parte sureste del Caribe (Moss *et al.*, 2013).

Méjico y otros países del Gran Caribe exportan colas de langosta congelada a distintas regiones del mundo, por lo que conocer la prevalencia de PaV1 en organismos frescos o congelados destinados a la venta comercial es muy importante para determinar el riesgo potencial que implica su posible distribución local e internacional y evitar posibles epizootias, como ha ocurrido con el virus de la mancha blanca en camarones peneidos (Hasson *et al.*, 1999).

Aunque el estado de Yucatán no forma parte de la región del Caribe, la captura de langosta representa también una importante pesquería. Actualmente, la legislación emitida para el manejo de esta actividad es la siguiente: una talla mínima de captura (135 mm de longitud abdominal), la prohibición de captura de hembras ovígeras o "parchadas" y el establecimiento de una veda que incluye los meses de mayor actividad reproductiva en la población (marzo-junio) (Ríos-Lara *et al.*, 2013).

Aunado a esto, el esfuerzo de pesca es regulado a través de la combinación de áreas concesionadas o permisos de pesca y número de permisos de embarcaciones que otorgan a las organizaciones sociales. Las embarcaciones menores están distribuidas en cuatro zonas: 1) poniente: Celestún y Sisal; 2) centro-Progreso: arrecife Alacranes; 3) centro: Dzilam de Bravo, y 4) oriente: río Lagartos, San Felipe y el Cuyo; cada una de estas pequeñas embarcaciones están equipadas con un compresor para el buceo, su jornada es de un día y capturan organismos subadultos y adultos. Las embarcaciones mayores (60 a 80 pies de eslora) pescan en las cercanías del arrecife Alacranes a profundidades que oscilan entre los 5 y 30 m, y realizan viajes de hasta 15 días, en los que capturan organismos adultos principalmente (Salas *et al.*, 2005).

El objetivo de este trabajo fue conocer la prevalencia del virus PaV1 en langostas *P. argus* capturadas en dos localidades del estado de Yucatán (en el arrecife Alacranes-Progreso y en el río Lagartos), al comprobar la relación entre la prevalencia de infección de PaV1 (variable dependiente) y otros factores tales como talla, estado de la muda, sexo y zona de colecta de las langostas (variables regresoras).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. Se seleccionaron dos áreas de pesca de langosta: 1) zona norte (Progreso): que comprende el Parque Nacional de Arrecife Alacranes y zonas arrecifales rocosas profundas aledañas, 2) río Lagartos, que es un área caracterizada por praderas de *Thalassia testudinum* (Banks, 1805) y formaciones rocosas naturales (Fig. 1). El arrecife Alacranes es el complejo coralino más importante del golfo de Méjico y se encuentra a 132 km al norte del puerto de Progreso, Yucatán, entre los $22^{\circ} 21' 45'' - 22^{\circ} 34' 55''$ N y $89^{\circ} 36' 47'' - 89^{\circ} 47' 53''$ O. Es un complejo arrecifal emergente de forma oval que cubre un área total de 293 km², con una longitud y una anchura máximas de 26.5 km y 14.8 km (Bello-Pineda, 1998). Está constituido por una plataforma que se eleva desde los 50 m de profundidad, y sus características morfológicas más sobresalientes las constituyen el cantil y la barrera de barlovento, el cantil norte, el cantil de sotavento, la meseta o zócalo arrecifal y las islas de pequeñas dimensiones conocidas como Pérez, Pájaros, Chica, Muertos, Desterrada y Desaparecida (De la Cruz *et al.*, 1993; Ardisson *et al.*, 1996). El clima es de tipo seco-cálido, con lluvias escasas y temperatura anual media de 26.7 °C (rango entre 10 y 40 °C). Las corrientes marinas se dirigen al oeste y los vientos dominantes más intensos se presentan entre octubre y marzo, provenientes del oeste y

noreste. Además, a estas corrientes se suman también los efectos de tormentas tropicales, huracanes y nortes (Logan, 1969).

El puerto de río Lagartos se localiza en la región litoral norte del estado, entre los $21^{\circ} 37' 35.55''$ N y $88^{\circ} 10' 56.96''$ O; ocupa una superficie de 249.09 km^2 y está limitado al norte con el golfo de México, al sur con el municipio de Panabá, al este con el municipio de Tizimín y al oeste con el puerto de San Felipe. Su clima es cálido semi-seco y templado con lluvias escasas, su temperatura anual media es de 25.4°C (con rangos entre 10 y 41°C) y la precipitación pluvial media es de 41.3 mm , con predominio de vientos procedentes del noroeste (INEGI, 2010) y de vegetación de duna costera.

Colecta de muestras: Se realizó un muestreo dirigido de 30 salidas quincenales durante la temporada de pesca, del 1 de julio de 2013 al 30 de enero de 2014 y del 1 al 30 de julio de 2014 (nunca se quebrantó la temporada de veda). Durante ese periodo se visitaron dos cooperativas: en Progreso, la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Pescadores de Sisal S. C. de R. L., donde se almacenan langostas capturadas por la flota mayor, provenientes de la zona de arrecife Alacranes, y en río Lagartos, la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Pescadores de río Lagartos S. C. de R. L., donde se acopian organismos que provienen de la pesca artesanal, caracterizados por embarcaciones pequeñas (flota menor). En ambas cooperativas se midió cada cola de langosta con un vernier ($\pm 0.1 \text{ mm}$) y se determinó el sexo con base en caracteres dimórficos externos (Briones-Fourzán *et al.*, 2007).

Las tallas (fases ontogénicas) de las langostas se calcularon por medio de la longitud de la cola y a través de la aplicación de las fórmulas del modelo de regresión propuesto por Briones-Fourzán *et al.* (2007): macho $TL = 1.79 LC + 37.31$ $R^2 = 0.82$; hembra $TL = 1.47 LC + 10.58$ $R^2 = 0.61$. Dónde: TL = longitud total (mm); LC = longitud de la cola. Este modelo de regresión utiliza el método *bootstrap* o remuestreo, ya que a partir de la medición de las colas se estiman los tamaños totales de los organismos. Este modelo se basa en un muestreo probabilístico que permite establecer el grado de significancia (usualmente el 5%) como la máxima cantidad de error, al hacer estimaciones alternativas de los parámetros de la regresión (Briones-Fourzán *et al.*, 2007).

Debido a que las colas de langosta estaban destinadas a exportación, se colectó de cada una de ellas aproximadamente 50 mg de tejido de intestino cercano a la región anal, de acuerdo con lo descrito por Huchín-Mian *et al.* (2009). Cada porción de tejido colectado se guardó en un vial de plástico (Eppendorf, EUA) de 1.5 ml , con alcohol etílico al 96% para su conservación. Cada vial se etiquetó con el número de langosta y la zona de captura. Durante la colecta de tejido se utilizaron tijeras y pinzas estériles, cuyo cuidado consistió en su lavado y esterilización con alcohol etílico al 70% y su posterior flameo en un mechero de alcohol para evitar contaminación cruzada con ADN.

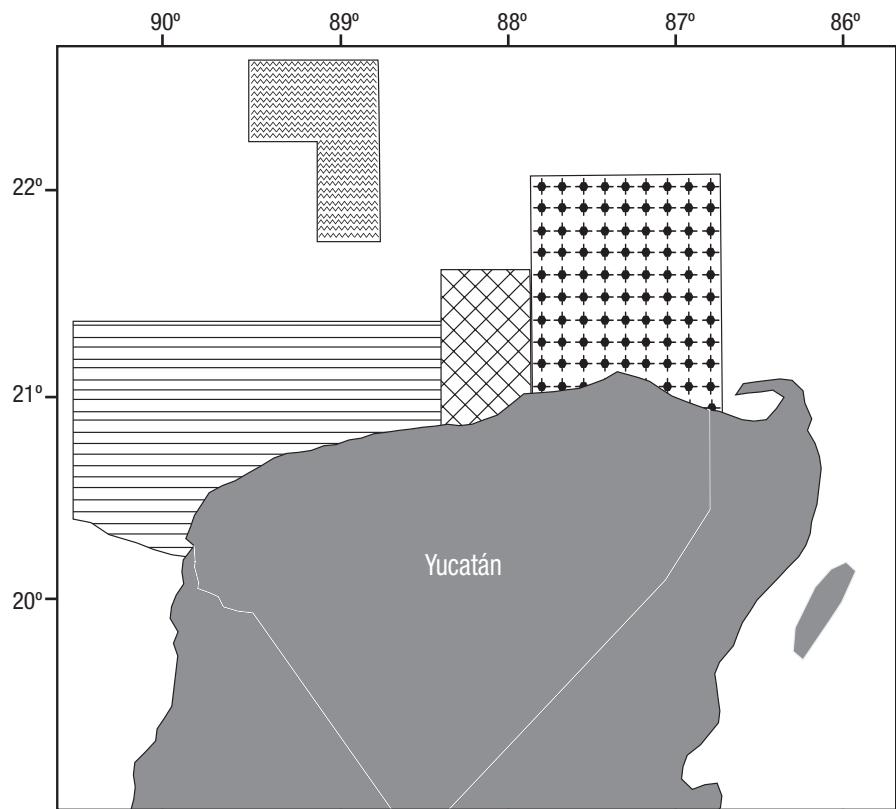


Figura 1. Áreas de pesca de langosta *Panulirus argus* (Latreille, 1804) en el litoral del estado de Yucatán, México. ■ = Alacranes-Progreso, □ = Poniente, ▨ = Centro, ▨▨ = Oriente (tomado de Salas *et al.*, 2005 y modificado por Bello *et al.*, 2000).

A las 496 colas (327 colas de langosta se colectaron en la primera cooperativa y 169 en la segunda) también se les cortó el extremo distal de uno de sus pleópodos para determinar el estado de muda, de acuerdo con las características descritas por Lyle y McDonald (1983). Los pleópodos se colocaron en viales de plástico con agua de mar y después se observaron en fresco en un microscopio compuesto (100x). Este análisis consiste en observar las características generales de la morfología externa y describir alguna de las cinco fases de desarrollo de la seta, epidermis y cutícula. En la fase temprana de la postmuda (A) la epidermis está presente en la seta y se retrae en la postmuda (B). En la fase de intermuda (C) la epidermis se retrae bajo la seta para formar una línea recta en el fondo. En la fase temprana de la premuda (D1) la epidermis se retrae de la cutícula vieja para formar una nueva cutícula. Y en la fase final (antes de la muda, D2) se forma una nueva seta debajo de la cutícula vieja. Los estados del ciclo de muda en los crustáceos están caracterizados por una serie de cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, por lo que es importante diferenciar si estos cambios son debido al estado de muda o son signos clínicos asociados a la infección por PaV1 (Huchín-Mian *et al.*, 2013).

Extracción de ADN. El ADN genómico se extrajo individualmente de cada muestra de tejido intestinal mediante el estuche comercial Wizard® SV Genomic DNA Purification System (Promega, EUA) (Huchín-Mian *et al.*, 2009). La concentración de ADN de cada muestra se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific™, Thermo Fisher Scientific, EUA), al medir los valores de absorbanza del ADN a 260 nm y 280 nm, respectivamente para cada muestra. El criterio para su utilización en la prueba de PCR fue la obtención de una relación de ≥ 1.8 del promedio de los valores a 260/280 nm.

Reacción en cadena de la polimerasa. El PCR simple se realizó en un volumen de 25 μ l, el cual consistió en: 1 μ l de plantillas de ADN, 0.33 μ M de iniciadores específicos (45aF TTCCAGCCCAGGTACGTATC y 543aR AACAGATTTCAGCAGCGT) que amplifican un fragmento de 499 pb (Montgomery-Fullerton *et al.* 2007), 2.5 mM de MgCl₂, 1.2x de búfer de reacción, 0.2 mM de la mezcla de DNTP y 2.5 U de Taq polimerasa (Thermo Fisher Scientific, EUA). Las condiciones de amplificación fueron de 94 °C durante 10 min, seguido por 30 ciclos de 94 °C por 30 s, 63 °C por 30 s, y 72 °C por 1 min, con una extensión final de 72 °C por 10 min en un termociclador T100 (Bio-Rad, EUA). Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2%, teñidos con 0.001 mg de bromuro de etidio y visualizados en un transiluminador de luz ultravioleta (MiniBis Pro®). En todos los casos se utilizó agua ultrapura y tejido de langostas no infectadas como controles negativos, y ADN de langostas infectada con PaV1 como control positivo (Montgomery-Fullerton *et al.*, 2007; Huchin-Mian *et al.*, 2008). Como control interno se utilizó actina (AF399872.1 *H. americanus* alpha actin mRNA); 3ActF (TCATGAGGTGCGACATTGAT) y 3ActR (GAGCCAGAGCAGTGATTCC), los cuales amplificaron una región de 120 pares de bases. Las reacciones se realizaron en un volumen de 25 μ l de volumen total con contenido: 2 μ l de ADN, 0.33 μ M de cada iniciador específico (F y R), 2.5 mM de MgCl₂, 1.2x buffer de reacción, 0.4 mM de la mezcla de dNTPs (Promega) y 1 U de Taq DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific, EUA), y se llevaron a cabo en un termociclador T100 (Bio-Rad, EUA) a 95 °C por 10 min, seguido de 30 ciclos de 95 °C / 30 s, 60°C / 30 s y 72 °C / 1 min, con una extensión final de 72 °C / 10 min. Se utilizó una escalera de 100 pb - 3 kb como referencia (Promega, EUA)

Los productos de PCR se secuenciaron por el método de la cadena terminal de Sanger utilizando el secuenciador automático ABI 310 (ABI Prism® 310, Thermo Fisher Scientific, EUA) (Sanger, 1977). Las secuencias se compararon con las depositadas en el banco de genes (GenBank; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) para buscar homologías con las depositadas en las bases de datos de PaV1 a través del sistema BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast>). En este portal se evaluaron los porcentajes de similitud, de cobertura y significancia (E) (Análisis ClustalW) de las secuencias de ADN del virus PaV1 de este estudio con las secuencias de PAV1 depositadas en el GenBank.

Análisis de datos. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa InfoStat (DiRienzo *et al.*, 2010). La prevalencia de la infección de determinó a través de la fórmula descrita por Bush y colaboradores (1997): prevalencia es igual al número de organismos infectados entre el número total de organismos, expresado en porcentaje (%).

Para la comparación de la prevalencia del virus PaV1 en las langostas *P. argus* entre las tallas (juveniles, adultos y subadultos), el sexo (machos y hembras) y los sitios de pesca, se utilizó la prueba χ^2 de Wald (con sus grados de libertad [gl]) con el fin de determinar las diferencias entre estas variables a través de la prueba de mínimos cuadrados. Asimismo, se realizó un análisis de regresión logística para comprobar la relación entre la prevalencia de infección de PaV1 (variable dependiente) y factores tales como talla, estado de la muda, sexo y zona (río Lagartos y arrecife Alacranes-Progreso, variables regresoras). Este análisis calcula, para cada una de las variables del modelo, el coeficiente de regresión (y su error estándar), el cual permite estimar la razón de productos cruzados o razón de momios [*odds ratio* (OR)] para cada variable regresora. El modelo de regresión logística puede ser usado para predecir la probabilidad (*p*) de que la variable respuesta asuma un valor determinado. Los resultados fueron interpretados por medio de la OR, la cual es un parámetro de cuantificación que indica la probabilidad de riesgo de que una langosta sea infectada por el virus PaV1. El modelo de regresión logística utiliza la prueba χ^2 de Wald para la validación de los valores de los coeficientes de regresión y los OR. Para el análisis de datos se utilizó el programa Infostat (DiRienzo *et al.*, 2010).

RESULTADOS

Ninguna de las 496 colas de langosta analizadas tenía signos clínicos de la enfermedad causada por PaV1, como son: coloración rojiza decefalotórax ni vestigios de hemolinfa lechosa. Todos los organismos estuvieron en intermuda.

Se detectó DNA de PaV1 en 13 colas de langosta *P. argus* por la prueba de PCR. En la Figura 2 se muestra un ejemplo de la amplificación de un amplicón de 499 pb correspondiente al PaV1. Asimismo, en la Figura 3 se muestra la amplificación de un producto de 120 pb, correspondientes a la región control de Actina. En total se obtuvo una prevalencia de 2.62% (Tabla 1).

Los resultados BLAST obtenidos de la comparación de las secuencias de ADN de PaV1 de este estudio (número de acceso en el GenBank: KR362559), mostraron 100% de homología y de cobertura con las secuencias de PaV1 reportadas en juveniles *P. argus* de la Florida, EUA (número de acceso: EF206313) (E = 0.0) y 99% de homología y 100 % de cobertura con la secuencia de DNA de puerulos de *P. argus* cole-

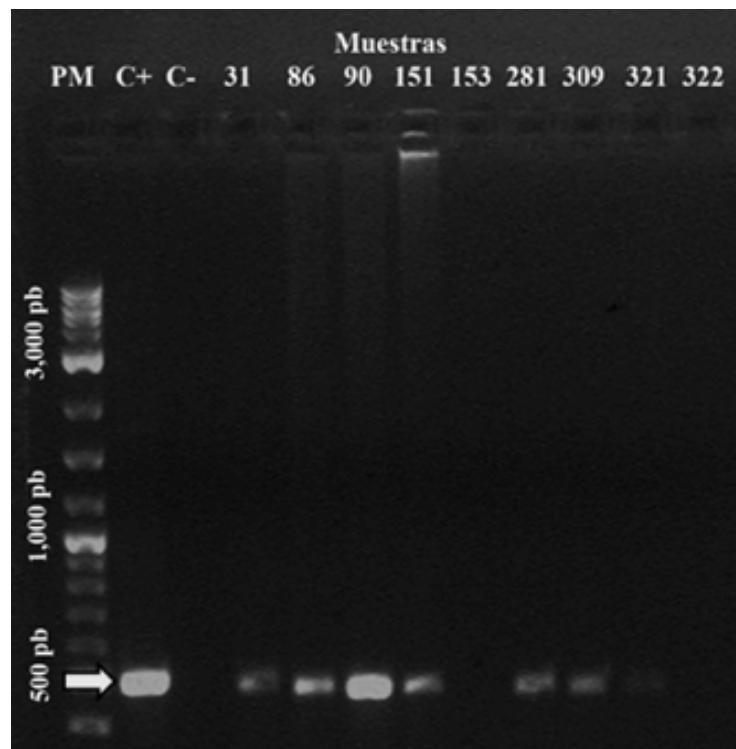


Figura 2. Prueba de PCR-simple para detectar al virus PaV1 (499 pb) en las colas de langostas *Panulirus argus* (Latreille, 1804). PM = escalera de peso molecular de 100 pb plus, C+ = control positivo, C- = control negativo). Los números denotan el número asignado a cada muestra de langosta.

tados en Puerto Morelos, Quintana Roo ($E = 0.0$) (número de acceso: KR362560) (Lozano-Álvarez *et al.*, 2015).

La proporción de tallas de las langostas varió entre las zonas de captura: 202 subadultas (79 de arrecife Alacranes, Progreso y 123 de río Lagartos) y 294 adultos (248 de arrecife Alacranes, Progreso y 46 de río Lagartos), donde una mayor proporción de estos últimos se encontró en arrecife Alacranes, Progreso (Fig. 3). La distribución de organismos machos y hembras fue similar entre los dos sitios de muestreo, pero para la talla adulta se observó una mayor proporción de organismos machos (Fig. 4a).

Determinación de los factores de riesgo asociados a la prevalencia del virus PaV1. Se observó una mayor prevalencia de PaV1 en el río Lagartos (4.62%) en comparación con arrecife Alacranes, Progreso (1.52%) ($\chi^2 = 4.28, p = 0.0038$) (Fig. 4). No se encontraron diferencias significativas en la prevalencia del PaV1 entre machos (2.35%) y hembras (2.69%) ($\chi^2 = 0.06, p = 0.8132$) (Tabla 1, Fig. 4b).

En cambio, sí se registraron diferencias significativas entre las tallas de langosta, donde la talla subadulta presentó una mayor prevalencia de PaV1 (3.39%) en contraste con la talla adulta (1.67%) ($\chi^2 = 9.62, p = 0.0081$) (Tabla 1, Fig. 4c).

Los estimados del análisis de regresión logística de las variables regresoras (talla, zona de pesca, estado de la muda y sexo) sobre la probabilidad de encontrar langostas con el virus PaV1 mostraron que solamente dos variables presentaban una relación significativa: la talla

de las langostas y la zona de muestreo. Con este análisis se observó que la probabilidad de encontrar DNA de PaV1 en las langostas disminuyó significativamente conforme aumentó la talla de langosta, situación que fue significativamente mayor en río Lagartos en contraste con arrecife Alacranes, Progreso (Tabla 2).

Tabla 1. Prevalencia del *Panulirus argus* virus 1 (PaV1) en las colas congeladas de langosta espinosa *Panulirus argus* (Latreille, 1804)

Variable	N*	Número de langostas positivas a PCR	Prevalencia (%) de PaV1
<i>Sitio</i>			
Progreso	327	5	1.53
Río Lagartos	169	8	4.73
<i>Fase</i>			
Subadultas	202	8	3.96
Adultas	294	5	1.7
<i>Sexo</i>			
Hembra	208	5	2.4
Macho	288	8	2.77

*número de organismos

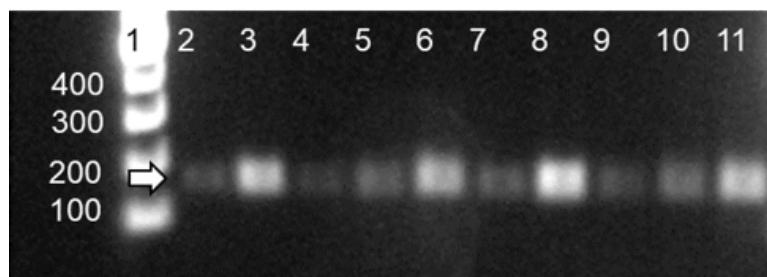


Figura 3. Prueba de PCR de la región control de actina. Línea 1: marcador molecular de 100 pb. Líneas 2-11: DNA de *Panulirus argus* (Latreille, 1804).

DISCUSIÓN

La exportación de colas de langosta *P. argus* genera una valiosa fuente de ingresos económicos para la península de Yucatán. En este recurso se ha detectado al virus PaV1. Aún no se sabe si éste tiene algún efecto sobre su pesquería, dado que en juveniles causa una enfermedad sistémica y crónico-degenerativa que provoca su muerte (Huchin-Mian et al., 2009; 2013; Cruz-Quintana et al., 2011; Behringer et al., 2012). Este virus se encuentra en organismos de vida libre y su erradicación es imposible hasta ahora (Behringer et al., 2012). Aunque PaV1 es el único agente viral reportado en *P. argus*, a la fecha no existe alguna normatividad referente a los requerimientos o las regulaciones sanitarias oficiales para detectar su presencia antes de ser distribuidos al mercado internacional. Se ha reportado que el transporte de organismos enfermos es un riesgo potencial para la propagación del virus de un área geográfica a otra, como ha ocurrido con otros patógenos en crustáceos (Hasson et al., 1999; Huchin-Mian et al., 2009). En ese sentido, este trabajo se propuso evaluar la prevalencia de PaV1 en dos de las principales zonas de pesca de langostas *P. argus* de la plataforma de la península de Yucatán destinadas a la exportación, con el fin de establecer algún factor de riesgo asociado a la presencia de PaV1.

Debido a que este estudio se basó en un muestreo dirigido, no se estimó el número de muestra en la colecta de organismos, no obstante, sí se siguieron las indicaciones de la Organización Internacional de

Epizootias (OIE), que sugiere colectar al menos 30 organismos para la vigilancia de patógenos exóticos (OIE, 2010).

Las secuencias de ADN de PaV1 (KR362559) obtenidas en este estudio tuvieron 100% de homología con secuencias de PaV1 reportadas en langostas juveniles *P. argus* de Florida ($E = 0.0$) (Montgomery-Fullerton et al., 2007) y 99% de homología con secuencias de puerulos reportados en Puerto Morelos, Quintana Roo ($E = 0.0$) (Lozano-Álvarez et al., 2015). No se analizaron juveniles ni puerulos debido a que el objetivo de este trabajo fue la detección de PaV1 en langostas *P. argus* subadultas y adultas destinadas a la comercialización. En este sentido, es importante recalcar que ninguna de las colas de langostas analizadas mostró algún signo clínico característico de PaV1 (coloración rojiza delcefalotórax y hemolinfa lechosa). Considerando ese criterio, se puede asumir que los organismos analizados no se encontraban infectados. Ya que esto es más evidente en las langostas juveniles (Shields & Behringer, 2004); sin embargo, estos signos también pasan desapercibidos inadvertidos en juveniles durante las fases tempranas de la infección (Li et al., 2008). En infecciones experimentales con langostas juveniles, los signos clínicos se empezaron a observar 80 días después de la inyección del virus (Li et al., 2008). En el medio natural esta gran ventana de tiempo en la fase subclínica o asintomática puede favorecer la propagación del virus (Behringer et al., 2006; Shields, 2011).

Tabla 2. Estimaciones de regresión logística y la probabilidad de infección (odds ratio \pm intervalos de confianza al 95%) con el virus PaV1 en colas de langostas *Panulirus argus* (Latreille, 1804) entre tallas, sitios de muestreo, estado de la muda y sexos (variables explicatorias).

Variable	Coeficiente de regresión	Error estándar	Odds ratio [OR] (intervalos de confianza de 95%)	Wald-X ²	gl	p*
<i>Talla</i>						
Subadulta	-3.49	1.41	0.03 (0.001-0.49)	6.1	2	0.0135**
<i>Sitio</i>						
Río Lagartos	6.44	1.77	626.6 (19.3-20314.4)	13.17	1	0.0003**
<i>Muda</i>						
	-0.06	0.36	0.94 (0.47-1.9)	0.03	3	0.8703
<i>Sexo</i>						
Macho	-1.01	0.61	0.36 (0.11-1.21)	2.71	1	0.0995

* Estimación de la significancia. **Se observaron diferencias significativas con $p \leq 0.05$.

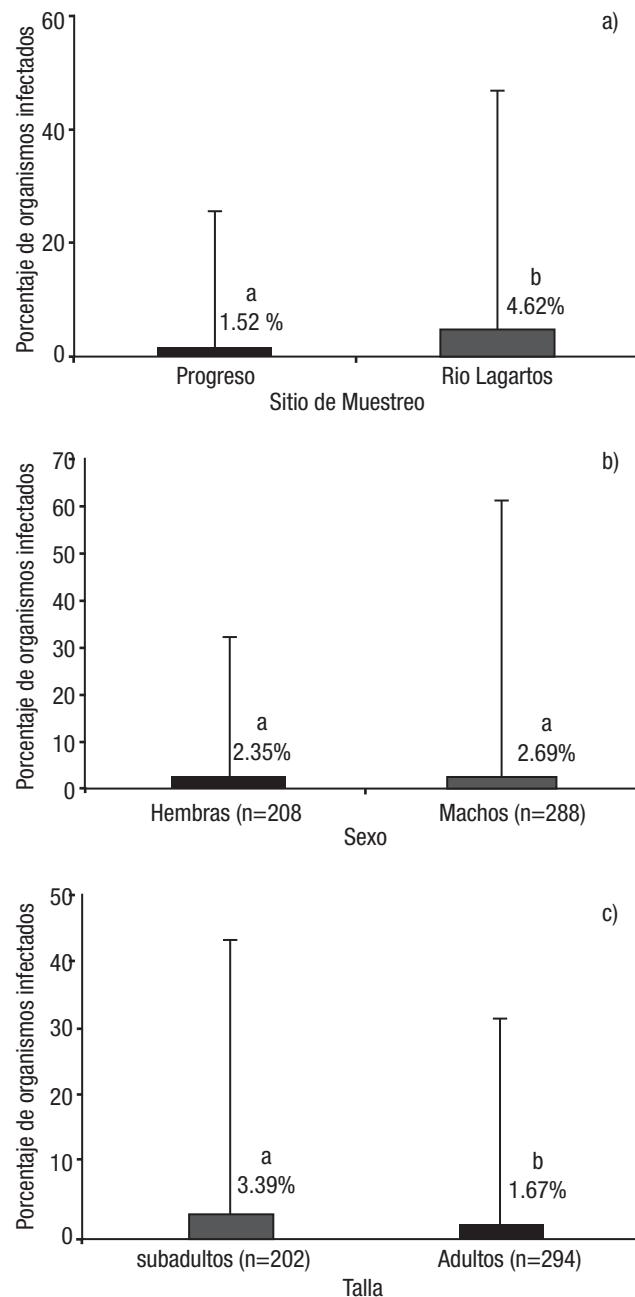
La prevalencia de 2.55% determinada por PCR indica la presencia del ADN viral en las colas de langostas destinadas a la exportación. Al evaluar los factores de riesgo, no se observaron diferencias significativas entre machos y hembras, ni con el estado de muda, pero sí se observaron diferencias significativas entre zonas de pesca: la prevalencia de PaV1 fue significativamente mayor en las langostas de río Lagartos (4.62%) respecto a las de Progreso (1.52%) (Tablas 1 y 2). En río Lagartos se practica la pesca artesanal en un área de captura de 10 a 20 m que está caracterizada por zonas de pastos marinos y vegetación sumergida, éstas brindan protección principalmente a las langostas juveniles y subadultas, las cuales son más susceptibles a la infección por PaV1. Sin embargo, esta vegetación también promueve el gregarismo, el cual incrementa el contacto entre las langostas y aumenta el riesgo de transmisión de PaV1 al compartir refugios (Beringher *et al.*, 2012; Briones-Fourzán *et al.*, 2012; Shields, 2012). Por otro lado, la presencia de pastos marinos y vegetación costera provee condiciones propicias para zonas de crianza de las poblaciones de langosta *P. argus* del estado de Yucatán (Salas *et al.*, 2015). Además, se trata de un área protegida en donde se regula la pesca a través de vedas, por lo que tiene períodos de pesca bien definidos que van del 1 de julio al 30 de enero (Salas *et al.*, 2015). Por otro lado, en el Arrecife Alacranes la pesca comercial de langostas se realiza por medio de trampas, donde se capturan principalmente organismos subadultos y adultos a profundidades mayores de 30 m. Esta área, cuyo desembarque se realiza en el puerto de Progreso, tiene igualmente una arquitectura de fondo compleja y con gran diversidad de refugios (Ríos-Lara *et al.*, 2013).

La variación espacial de la prevalencia entre poblaciones de *P. argus* en zonas cercanas está relacionada con factores abióticos, como la profundidad y las características del tipo de fondo (Briones-Fourzán *et al.*, 2012; Stentiford & Feist, 2005; Shields, 2011). En Quintana Roo se han observado diferencias en la prevalencia de PaV1 en las poblaciones naturales de *P. argus* entre hábitats cercanos (menos de 15 km). Por ejemplo, en Bahía de la Ascensión no se reportaron langostas infectadas, mientras que en Vigía Chico la prevalencia fue por arriba del 8% por PCR y de 1.8% por signos clínicos (Candia-Zulbarán *et al.*, 2012; Huchín-Mian *et al.*, 2013).

En este estudio la prevalencia de PaV1 fue mayor en langostas subadultas (3.39%) que en langostas adultas (1.67%) (Tabla 2). La razón de que las adultas sean más resistentes a la infección por PaV1 aún se desconoce, por lo tanto, es motivo de estudio. No obstante, los resultados de esta investigación coinciden con otros realizados en diferentes áreas geográficas del Caribe, en donde la prevalencia de PaV1 aumenta al disminuir la talla de *P. argus* (Shields & Behringer, 2004; Behringer *et al.*, 2006; Butler *et al.*, 2008; Lozano-Álvarez *et al.*, 2008; Cruz-Quintana *et al.*, 2011; Huchin-Mian *et al.*, 2013).

Debido a que los signos clínicos son menos evidentes en langostas subadultas y adultas, las pruebas de PCR sirven de apoyo para la identificación de ADN de PaV1 (Moss *et al.*, 2013). Aunque la identificación del DNA viral no puede discernir entre una infección pasada o presente, su utilidad en la determinación de áreas geográficas libres de PaV1 es relevante (Huchin-Mian *et al.*, 2013).

El conocimiento del estado de salud de *P. argus* en estas dos principales zonas de pesca proporciona información de línea base a los organismos encargados de establecer normativas sobre su regulación sanitaria.



Figuras 4a-c. Prevalencia (± intervalos de confianza al 95 %) del virus PaV1 en langostas *Panulirus argus* (Latreille, 1804). a) Por sitio de muestreo; b) Por sexo (machos y hembras); c) Por etapa ontogénica (talla). Letras diferentes en la barras indican diferencias estadísticas significativas.

En conclusión, los resultados de este trabajo muestran que el DNA del virus PaV1 está presente en colas de langostas congeladas, almacenadas y destinadas a la exportación. El riesgo de transmisión de PaV1 estuvo asociado a las variables: zona de pesca y fase ontogénica. Las langostas provenientes de río Lagartos (zona 4) tuvieron una prevalencia mayor que las langostas provenientes del arrecife Alacranes (zona 2). De igual forma, la prevalencia de PaV1 en langostas subadultas fue mayor que en las langostas adultas.

AGRADECIMIENTOS

A la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Pescadores de Río Lagartos S. C. de R. L. y a la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Pescadores de Sisal S. C. de R. L., por su gran apoyo durante la colecta de material biológico. Al Conacyt, por la beca de doctorado otorgada a R. Pérez-Campos (número de referencia A3329). Y a los servicios externos del Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular (Cinvestav IPN Unidad Mérida) y al proyecto UNAM PAPIIT IN215113 (C. Pascual Jiménez), por su financiamiento.

REFERENCIAS

- ARDISSON, H. P., J. DUNCAN, L. AGUIRRE & J. CANELA. 1996. Programa de manejo del Parque Marino Nacional Arrecife Alacranes, Yucatán, México. Cinvestav-IPN, Unidad Mérida.
- BEHRINGER, D. C., M. J. BUTLER & J. D. SHIELDS. 2006. Avoidance of disease by social lobsters. *Nature* 44: 421. DOI: 10.1038/441421a
- BEHRINGER, D. C., M. J. BUTLER, J. D. SHIELDS & J. MOSS. 2011. Review a *Panulirus argus* virus 1-a decade after its discovery Avoidance of disease by social lobsters. *Diseases of Aquatic organisms* 93: 153-160. DOI: 10.3354/dao02326
- BEHRINGER, D. C., M. J. BUTLER IV, J. MOSS & J. D. SHIELDS. 2012. PaV1 infection in the Florida spiny lobster (*Panulirus argus*) fishery and its effects on trap function and disease transmission. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 69: 136-144. DOI: 10.1139/F2011-146
- BELLO-PINEDA, J. 1998. Sistema de clasificación para los tipos de fondo del Arrecife Alacranes compatible con una imagen Landsat TM. Tesis de maestría en Ciencias (Biología), Cinvestav-IPN Unidad Mérida, Mérida. 107 p.
- BRIONES-FOURZÁN, P., E. LOZANO-ÁLVAREZ, F. NEGRETE-SOTO & C. BARRADAS-ORTIZ. 2007. Enhancement of juvenile Caribbean spiny lobsters: an evaluation of changes in multiple response variables with the addition of large artificial shelters. *Oecologia* 151: 401-416. DOI: 10.1007/s00442-006-0595-9
- BRIONES-FOURZÁN, P., R. I. CANDIA-ZULBARÁN, F. NEGRETE-SOTO, C. BARRADAS-ORTIZ, J.P. HUCHIN-MIAN & E. LOZANO-ÁLVAREZ. 2012. Influence of local habitat features on avoidance of disease by Caribbean spiny lobsters in a casita-enhanced bay. *Diseases of Aquatic Organisms* 100: 135-148. DOI:10.3354/dao02465
- BUSH, A. O., K. D. LAFFERTY, J. M. LOTZ & A. W. SHOSTAK. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *The Journal of Parasitology* 83: 575-583.
- BUTLER, M. J., D. C. BEHRINGER & J. D. SHIELDS. 2008. Transmission of *Panulirus argus* Virus 1(PaV1) and its effect on the survival of juvenile Caribbean spiny lobster. *Diseases of Aquatic Organisms* 79: 173-182. DOI: 10.3354/dao01899
- CANDIA-ZULBARÁN, R. I., P. BRIONES-FOURZÁN, F. NEGRETE-SOTO, C. BARRADAS-ORTIZ & E. LOZANO-ÁLVAREZ. 2012. Variability in prevalence of the PaV1 disease in Caribbean spiny lobsters occupying commercial casitas over a large bay in Mexico. *Diseases of Aquatic Organisms* 100: 125-133. DOI: 10.3354/dao02452
- CRUZ-QUINTANA, Y., R. RODRÍGUEZ-CANUL & V. VIDAL-MARTÍNEZ. 2011. First evidence of *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1) in spiny lobster from Cuba and clinical estimation of its prevalence. *Diseases of Aquatic Organisms* 93:141-147. DOI: 10.3354/dao 02279
- DE LA CRUZ, G., E. MARTÍNEZ & R. MUÑOZ. 1993. Propuesta de zonificación del Arrecife Alacranes, Yucatán. Cinvestav Mérida. Instituto Politécnico Nacional.
- DIRENZO, J. A., F. CASSANOVES, M. G. L. BALZARIN, M. TABLADA & C. W. ROBLEDO. 2010. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- EHRHARDT, N., R. PUGA, M. J. BUTLER IV. 2010. Implications of the ecosystem approach to fisheries management in large ecosystems: The Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*, fisheries as a case. In: Fanning, L., Mahon, R. & McConney, P. (eds). *Towards Marine Ecosystem-Based Management in the Wider Caribbean*. Amsterdam: University Press. 368 p.
- HASSON, K. W., D. V. LIGHTNER, L. L. MOHNEY, R. M. REDMAN, B. T. POULOS & B. M. WHITE. 1999. Role of lymphoid organ spheroids in chronic Taura syndrome virus (TSV) infections in *Penaeus vannamei*. *Diseases of Aquatic Organisms* 38: 93-105.
- HUCHÍN-MIAN, J. P., P. BRIONES-FOURZÁN, R. RODRÍGUEZ-CANUL, E. ARIAS-BAÑUELOS, R. SIMÁ-ÁLVAREZ, J. A. PÉREZ-VEGA & E. LOZANO-ÁLVAREZ. 2008. Presence of *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1) in juvenile spiny lobsters *Panulirus argus* from the Caribbean coast of Mexico. *Diseases of Aquatic Organisms* 79: 153-156. DOI: 10.3354/dao01898
- HUCHÍN-MIAN, J.P., P. BRIONES-FOURZÁN, R. SIMÁ-ÁLVAREZ & Y. CRUZ-QUINTANA. 2009. Detection of *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1) in exported frozen tails of subadult-adult Caribbean spiny lobsters *Panulirus argus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 86:159-162 DOI: 10.3354/dao02117
- HUCHÍN-MIAN, J.P., R. RODRÍGUEZ-CANUL, P. BRIONES-FOURZÁN & E. LOZANO-ÁLVAREZ. 2013. *Panulirus argus* virus 1 (PaV1) infection prevalence and risk factors in a Mexican lobster fishery employing casitas. *Diseases of Aquatic Organisms* 107: 87-97 DOI: 10.3354/dao02676
- INEGI (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA). 2010. *Anuario estadístico de los Estados Unidos Mexicanos*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. Disponible en línea en: <http://www.inegi.org.mx>.
- LI, C., J. D. SHIELDS, R.E. RATZLAFF & M. J. BUTLER. 2008. Pathology and hematology of the Caribbean spiny lobster experimentally infected with *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1). *Virus Research* 132: 104-113. DOI: 10.1016/j.virusres.2007.11.005
- LOGAN, B. W. 1969. Carbonate sediments and reefs, Yucatan Shelf, Mexico. *American Association of Petroleum Geologists, Memoir* 11: 1-198.
- LOZANO-ÁLVAREZ, E., P. BRIONES-FOURZÁN, A. RAMÍREZ-ESTÉVEZ, D. PLACENCIA-SÁNCHEZ, J. P. HUCHIN-MIAN & R. RODRÍGUEZ-CANUL. 2008. Prevalence of *Panulirus argus* Virus 1 and habitation patterns of healthy and diseased Caribbean spiny lobsters in shelter-limited habitats. *Diseases of Aquatic Organisms* 80: 95-104. DOI: 10.3354/dao01921
- LOZANO-ÁLVAREZ, E., P. BRIONES-FOURZÁN, J. P. HUCHIN-MIAN, I. SEGURA-GARCÍA, J. P. EK-HUCHIM, M. AMÉNDOLA-PIMENTA & R. RODRÍGUEZ-CANUL. 2015. Molecular detection of PaV1 (*Panulirus argus* Virus 1) in nektonic post-larvae of Caribbean spiny lobsters in oceanic waters: implications

- for long-distance disease dispersal. *Disease of Aquatic Organisms* 117: 165-170. DOI: 10.3354/dao02935
- LYLE, W. & C. MACDONALD. 1983. Molt stage determination in the Hawaiian spiny lobster. *Journal of Crustacean Biology* 3 (2): 208-216.
- MONTGOMERY-FULLERTON, M. M., R. A. COOPER, K. M. KAUFFMAN, J. D. SHIELDS & R. E. RATZLAFF. 2007. Detection of *Panulirus argus* Virus 1 in Caribbean spiny lobsters. *Disease of Aquatic Organisms* 76: 1-6.
- Moss, J., D. C. BEHRINGER, J. D. SHIELDS, J. A. BAEZA, A. AGUILAR-PERERA, P. G. BUSH & C. DROMER IV. 2013. Distribution, prevalence, and genetic analysis of *Panulirus argus* virus I from the Caribbean Sea. *Diseases of Aquatic Organisms* 104: 129-140. DOI: 10.3354/dao02589
- OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SALUD ANIMAL). 2010. *Aquatic Animal Health Code*. 13a edición. París, Francia, 247 p. ISBN 978-92-95108-71-4. Disponible en línea en: <http://www.oie.int/doc/ged/D7821.PDF>.
- PUGA, R. 2002. El estado regional de las pesquerías de langosta en el Caribe. Segundo Taller sobre el Manejo de las Pesquerías de la langosta espinosa del área de la COPACO. La Habana, Cuba, septiembre-octubre de 2002.
- RÍOS-LARA, G. V., J. C. ESPINOZA-MENDEZ, C. ZETINA-MOGUEL, C. AGUILAR-CARDOZO & A. RAMÍREZ-ESTÉVEZ. 2013. *La pesquería de langosta Panulirus argus en el golfo de México y mar Caribe mexicano*. Primera edición. Instituto Nacional de Pesca, Mexico D. F.
- SALAS, S., J. BELLO, G. RÍOS, R. SOLÍS, M. CABRERA & A. SANTA MARÍA. 2005. *Programa maestro del sistema producto de la pesquería de langosta en Yucatán*. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (Conapesca). pp. 1-12.
- SALAS, S., R. REGIST, C. ZAPATA, M. A. CABRERA & J. EUAN-AVILA. 2015. How much we can learn from fishers about ecology and fisheries management: case studies on spiny lobster fishery in Mexico. In: Fischer J., J. Jorgensen, H. Josupeit, D. Kalikoski & C. M. Lucas (eds). *Fishers' knowledge and the ecosystem approach to fisheries. Applications, experiences and lessons in Latin America*. First ed. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 591, Rome. 278 p.
- SANGER, F., S. NICKLEN, S. & A. R. COULSON. 1977. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74: 5463-5467.
- SHIELDS, J. D & D. C. BEHRINGER. 2004. A new pathogenic virus in the Caribbean spiny lobster *Panulirus argus* from the Florida Keys. *Disease of Aquatic Organisms* 59: 109-18. DOI: 10.3354/dao059109
- SHIELDS, J. D. 2011. Diseases of spiny lobsters: a review. *Journal of Invertebrate Pathology* 106: 79-91. DOI: 10.1016/j.jip.2010.09.015
- SHIELDS, J. D. 2012. The impact of pathogens on exploited populations of decapod crustaceans. *Journal of Invertebrate Pathology* 110: 211-224. DOI: 10.1016/j.jip.2012.03.011
- STENTIFORD, G. D. & S. W. FEIST. 2005. A histopathological survey of shore crab (*Carcinus maenas*) and brown shrimp (*Crangon crangon*) from six estuaries in the United Kingdom. *Journal of Invertebrate Pathology* 88: 136-146. DOI: 10.1016/j.jip.2005.01.006

Reemplazo de harina de pescado con gluten de maíz en dietas de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*): efectos en crecimiento y otros parámetros fisiológicos

Replacement of fish meal with corn gluten in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth and other physiological parameters

Javier Alonso Carrillo Longoria[®], Daniel Sánchez Ávila[®], Luis Héctor Hernández Hernández^{1*}[®], Omar Ángeles López[®] y Mario Alfredo Fernández Araiza[®]

Recibido: 04 de febrero de 2018.

Aceptado: 28 de agosto de 2018.

Publicado: 05 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: Las harinas de origen vegetal, como el gluten de maíz, se han propuesto en dietas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) como fuente alternativa de proteína en lugar de las harinas de pescado.

Objetivos: Determinar el efecto en el crecimiento y otros parámetros fisiológicos de juveniles de trucha arcoíris alimentadas con dietas elaboradas a base de gluten de maíz como sustituto de harina de pescado.

Métodos: Durante un período de 90 días se administraron tres dietas con sustituciones de 50, 75 y 100% de gluten de maíz (G50%, G75% y G100%, respectivamente) utilizando gluten de maíz fueron administradas por un período de 90 días a juveniles con peso inicial de 14.7 ± 0.2 g (promedio \pm error estándar). Se determinó el crecimiento, el consumo de oxígeno, la excreción de P y N, el contenido de proteína y lípidos en músculo e hígado, así como el número de linfocitos y la actividad explosiva de los macrófagos del riñón. **Resultados:** Se observó una disminución en el crecimiento (ganancia en peso y tasa de crecimiento específico) conforme aumentó la inclusión del gluten de maíz en la dieta. Los organismos alimentados con G75% y G100% presentaron un contenido significativamente menor de proteína en el tejido muscular respecto al otro grupo, mientras que, de lo contrario, hubo un aumento en la deposición de lípidos del mismo tejido. El aumento de gluten de maíz incrementó el consumo de oxígeno y la excreción de nitrógeno amoniacial, pero no afectó al número de linfocitos ni la actividad de macrófagos. **Conclusiones:** Se puede incorporar hasta una 50% de gluten de maíz en dietas para juveniles de trucha arcoíris.

Palabras clave: crecimiento, gluten de maíz, harina de pescado, proteína, trucha arcoíris

ABSTRACT

Background: Plant-origin meals have been proposed as an alternative to fishmeal as a source of protein in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and one suggested alternative is corn gluten. **Goals:** Determine the effects on the growth and other physiological parameters of rainbow trout juveniles fed diets made with corn gluten as substitute for fishmeal. **Methods:** Three diets that substituted corn gluten in ratios of 50, 75, and 100% (G50%, G75% and G100%, respectively) for fishmeal were fed during 90 days to juveniles initially weighing 14.7 ± 0.2 g (mean \pm standard error). We measured growth performance, oxygen consumption, P and N excretion, protein and lipid contents in muscle and liver, as well the number of lymphocytes and burst activity of the kidney macrophage. **Results:** Growth performance (weight gain and specific growth rate) decreased as corn gluten increased in the diet. The organisms fed with G75% and G100% diets had a significantly lower deposition of protein in the muscle with respect to the other groups, while lipid deposition increased in the same tissue. Increasing levels of the corn gluten in the diet caused increased oxygen consumption and N ammonium excretion but did not affect the number of lymphocyte and the macrophage activity. **Conclusions:** Corn gluten may be used at a substitution level up to 50% in diets for juvenile rainbow trout.

Keywords: corn gluten, fishmeal, growth, protein, rainbow trout

INTRODUCCIÓN

En México, la producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) en el 2014 fue de 15,695 toneladas con un valor cercano a los 876 millones de pesos (Conapesca, 2015). Como se puede apreciar, la trucha representa un importante recurso económico y social en los estados de México, Michoacán, Veracruz y Puebla, que son los principales productores en el país. Durante el proceso de cultivo de esta especie, el alimento representa entre el 50 y 60% del costo de producción (FAO, 2014), y actualmente las formulaciones comerciales de alimento balanceado para trucha tienen como ingredientes base la harina y el aceite de pescado. La producción global de ambos insumos no se incrementará en los próximos años, y por ende, el desarrollo de la producción de esta especie será insostenible si ambos ingredientes se mantienen como las fuentes principales de proteína y lípidos en las dietas comerciales (Hardy, 2010). Los productos de origen vegetal se han propuesto como una alternativa seria a los ingredientes de pescado, y la expectativa es que permitan el crecimiento de las especies acuáticas con un mínimo de impacto en el ambiente y a un costo menor (Gatlin *et al.*, 2007). Uno de los productos de origen vegetal que se ha propuesto como fuente de proteína para su inclusión en las dietas de trucha es el gluten de maíz (GM). Resultado de la molienda húmeda de la semilla del maíz, el GM tiene un alto contenido de proteína cruda (60%) y es altamente digerible, con coeficientes de digestibilidad aparentemente mayores al 95% (Saez *et al.*, 2016). El GM se utiliza en diversas formulaciones de dietas de algunas especies comerciales marinas y de salmón, con inclusiones en un rango de entre 10 y 15% (Gatlin *et al.*, 2007). En el caso de la trucha arcoíris, Sáez *et al.* (2016) reportaron que una inclusión de hasta 18% de GM en la dieta de truchas de aproximadamente 500 g no afecta el crecimiento y la deposición de nutrientes en el cuerpo. Sicuro *et al.* (2017) reportaron que el crecimiento y los parámetros hematológicos no fueron afectados en juveniles trucha de 50 g alimentados con dietas de GM al 40% en sustitución de harina de pescado. Gerile & Pirhonen (2017) encontraron en truchas de 80 g alimentadas con una dieta con GM como fuente de proteína no se afectó el consumo de oxígeno durante períodos de nado forzado.

Por otro lado, el estatus nutricional tiene una fuerte influencia en la respuesta inmune de los organismos acuáticos (Kiron, 2012). La cantidad y calidad de las fuentes de proteína de la dieta tienen un efecto sobre las respuestas inmunes (Hardy, 2001), ya que un consumo insuficiente, afectará el contenido de proteínas de las células y eventualmente las incapacitará. De acuerdo con Tacon (1995), el uso de proteínas de origen vegetal puede afectar la respuesta inmune de los organismos acuáticos con hábitos carnívoros. Por ello, el objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de dietas con altos niveles de inclusión de GM en el crecimiento, la deposición de nutrientes, la excreción de fósforo (P) y nitrógeno (N), así como la actividad explosiva de los macrófagos en juveniles de trucha arcoíris.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dietas experimentales. Se formularon 3 dietas con un contenido mínimo de 40% de proteína cruda y 12% de lípidos, para cubrir los requerimientos previamente reportados para la especie (NRC, 2011). La harina de pescado se sustituyó con gluten del maíz (Glutimex, 60% proteína cruda, CP Ingredientes S.A. de C.V., México) en 50, 75 y 100% de la porción de la proteína (Tabla 1). Como fuente de lípidos se utilizó una mezcla 1:1 de aceites de soya y linaza, así como aceite de pescado

(Drotasa S. A. de C. V., México). Se utilizó dextrina (Sigma Aldrich Co., Estados Unidos) como única fuente de carbohidratos. Asimismo, se empleó una mezcla de vitaminas y minerales (Micro Rovimix para peces carnívoros, DSM Nutritional Products de México S.A. de C.V., México) y gluten de trigo (Sigma Aldrich Co., Estados Unidos) como aglutinante. Finalmente, se adicionó α -celulosa (Sigma Aldrich Co., Estados Unidos) para llevar la dieta al 100%. Las dietas se elaboraron de acuerdo con lo descrito por Cruz *et al.* (2011), y como dieta control se utilizó Api-trucha 2 (composición reportada por el fabricante de 45% proteína y 15% lípidos, Malta-Cleyton de México, México).

Obtención de organismos. Se obtuvieron juveniles de trucha arcoíris del Centro de Producción Acuícola El Zarco y se trasladaron al Laboratorio de Producción Acuícola de la FES Iztacala, UNAM. Los organismos se mantuvieron en tanques de 500 L por un periodo de 15 días y se alimentaron con una dieta comercial (Api-trucha 2).

Prueba de alimentación. Para la prueba se utilizaron 8 tanques de polipropileno de 500 L. En cada tanque se colocaron aleatoriamente 45 juveniles con un peso de 14.7 ± 0.2 g (promedio \pm error estándar), y cada dieta se suministró por duplicado en grupos de juveniles. Los peces se alimentaron diariamente con la dieta respectiva, considerando un 7% de la biomasa total por tanque. La ración diaria se dividió en 2 porciones, en la mañana y al atardecer. Para pesar a los organismos cada 10 días, se anestesiaron con MS-222 (ácido metasulfónico 3-amino-benzoato etílico, Sigma Aldrich Chemical, E.U.) a 150 mg L $^{-1}$. El tamaño de la ración se ajustó de acuerdo con el nuevo peso. Treinta minutos después de cada alimentación se recogió el alimento no consumido y se cuantificó para determinar la tasa de ingesta. Posteriormente, y con la finalidad de mantener la calidad del agua, se limpiaron las heces fecales del fondo de cada tanque sifoneando con una manguera. Durante la prueba, los parámetros de la calidad del agua fueron (media \pm error estándar): oxígeno disuelto 4.5 ± 1 mg L $^{-1}$, pH 7.9 ± 0.5 , temperatura del agua 14 ± 1 °C y concentración de amonio de 0.00 mg L $^{-1}$. La prueba de alimentación duró 90 días. Los peces se mantuvieron sin alimento por 24 horas y se pesaron para obtener el crecimiento. Seis organismos de cada tratamiento se seleccionaron al azar y se utilizaron para determinar el consumo de oxígeno y la excreción de fósforo y nitrógeno. Cinco peces de cada repetición se seleccionaron al azar y se sacrificaron con una sobredosis del anestésico MS-222 (ácido metasulfónico 3-amino-benzoato etílico, Sigma Aldrich Chemical, Estados Unidos) a 200 mg L $^{-1}$, después se tomaron muestras de sangre que se colocaron en tubos con anticoagulante (EDTA-K $_2$, tubos BD Vacutainer, BD Diagnósticos, México) y una solución balanceada de sales. Estas muestras se utilizaron para cuantificar el número de linfocitos. Finalmente, se realizó la disección de los riñones para la prueba del estallido respiratorio de los macrófagos, además de muestras para el análisis de contenido de proteína y lípidos en músculo e hígado.

Parámetros de crecimiento. El crecimiento se determinó mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{Ganancia en peso} = [(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{peso inicial}] \times 100;$$

$$\text{Tasa de crecimiento específico} = [(\ln \text{peso final} - \ln \text{peso inicial}) / \text{tiempo de alimentación}] \times 100$$

Consumo de oxígeno y excreción de fósforo (P) y nitrógeno (N). Se utilizó un sistema de recirculación cerrado que consistió en 10 frascos de 1 L conectados en serie por tubos de plástico (Cruz *et al.*, 2011). Los frascos se llenaron lentamente con agua a 14 °C y se colocó un pez por cada frasco. Se tomaron muestras iniciales de agua (concentracio-

Tabla 1. Formulaciones y composición proximal de las dietas experimentales para juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792).

Ingredientes (g kg ⁻¹)	Tratamientos		
	G50 %	G75 %	G100 %
Harina de pescado	307.5	153.85	0
Gluten de maíz	333.5	500.25	667
Mezcla de aceites ¹	40	40	40
Aceite de pescado	30	30	30
Lecitina de soya	50	50	50
Dextrina	100	100	100
Mezcla de vitaminas y minerales ²	40	40	40
Aglutinante	50	50	50
α-celulosa	48.8	35.9	23
Composición proximal (% en base seca)			
Proteína	40.6 ± 0.1	40.9 ± 0.2	37.5 ± 0.4
Lípidos	15.1 ± 0.1	16.4 ± 0.1	15.9 ± 0.2
Cenizas	8.1 ± 0.1	7.9 ± 1.4	6.2 ± 0.1

¹Aceites de soya y linaza, mezcla 1:1²Mezcla de vitaminas y minerales (g/kg): ácido p-aminobenzoico, 1.45; biotina, 0.02; myo-inositol, 14.5; ácido nicotínico, 2.9; pantotenato de Ca, 1.0; piridoxina-HCl, 0.17; riboflavina, 0.73; tiamina-HCl, 0.22; menadiona, 0.17; α-tocoferol, 1.45; cyanocobalamina, 0.0003; calciferol, 0.03, L-ascorbil-2-fosfato-Mg, 0.25; ácido fólico, 0.05; cloruro de colina, 29.65, NaCl, 1.838; MgSO₄·7H₂O, 6.85; Na₂HPO₄·2H₂O, 4.36; KH₂PO₄, 11.99; Ca(H₂PO₄)₂·2H₂O, 6.79; citrato-Fe, 1.48; lactato de Ca, 16.35; AlCl₃·6H₂O, 0.009; ZnSO₄·7H₂O, 0.17; CuCl₂, 0.0005; MnSO₄·4H₂O, 0.04; KI, 0.008 and CoCl₂, 0.05.

nes de P y N = 0 mg L⁻¹) y se determinó el oxígeno disuelto (oxímetro modelo 85, YSI Incorporated, OH, EU), posteriormente, los frascos fueron cerrados herméticamente. Después de 20 min, los frascos fueron abiertos, se midió nuevamente el oxígeno disuelto y se tomaron nuevas muestras de agua para determinar la excreción de P (como PO₄³⁻) y N (como NH₃-N), de acuerdo con las técnicas de molibdovanadato y Nessler (Clesceri *et al.*, 1998). El consumo de oxígeno se calculó como la diferencia entre la concentración inicial y la final.

Análisis químicos. Los contenidos de proteína de las muestras de músculo e hígado se determinaron mediante la técnica de la AOAC (1990), la cual emplea un sistema de destilación Kjeltec 2100 (Foss A/S, Dinamarca). El contenido de lípidos se determinó mediante la técnica de Blight y Dyer (1959), que utiliza cloroformo y metanol para la extracción.

Cuantificación de los linfocitos. Los tubos con la sangre, anticoagulante y la solución balanceada de sales se agregaron con 3 ml de ficoll (Ficoll-Paque PLUS, GE Healthcare Bio-Science AB, Suecia) y se centrifugaron a 2,260 rpm durante 30 min. Se retiró el sobrenadante y se aisló la capa con los linfocitos, para limpiarlos, se colocaron en un tubo nuevo con la solución balanceada de sales, y se centrifugaron a 810 rpm durante 10 min; se retiró el sobrenadante y se agregó una nueva solución balanceada de sales, con la cual se centrifugó nuevamente. Finalmente, se tomó la capa limpia con los linfocitos, se tiñeron con el colorante de Wright y se contaron en una cámara de Neubauer.

Estallido respiratorio de los macrófagos. El aislamiento y cultivo de los macrófagos del riñón se realizó de acuerdo con Chung y Secombes (1988) y Secombes (1990). La actividad de anión superóxido de los macrófagos (estallido respiratorio) se determinó por la reducción del colorante nito-azul tetrazolium (NBT) con un lector de placa Sunrise (Tecan Group Ltd., Suiza) en una longitud de onda de 620 nm (OD₆₂₀). Posteriormente, se determinó el número de macrófagos en cada uno de los pocillos. Los resultados están expresados como OD₆₂₀ por 10⁴ células.

Análisis estadístico. Los datos de crecimiento, de contenido de proteína y lípidos en los tejidos, del número de linfocitos y del estallido respiratorio de los macrófagos se analizaron para normalidad y homoscedasticidad con las pruebas W de Shapiro y Wilk, así como de Barlett, respectivamente (Zar, 1999). Debido a que los datos mostraron normalidad y homoscedasticidad, se trajeron con un ANDEVA de una vía (Prism 6 for MAC OS X, GraphPad Software Inc., Estados Unidos). Las diferencias significativas entre los tratamientos se evaluaron con una prueba de LSD de Fisher (Zar, 1999) y las diferencias se determinaron con un error de 5% (*p* < 0.05) para cada grupo de comparaciones.

RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestran los datos de crecimiento de los juveniles de trucha arcoíris alimentados con diferentes inclusiones de gluten de maíz durante 90 días. El peso final (PF) fue significativamente (*p* < 0.0001) más bajo en el grupo de truchas alimentadas con la dieta G100%, con respecto a los demás grupos. De la misma forma, los valores de la ganancia en peso (GP) y la tasa de crecimiento específico (TCE) en los organismos alimentados con G100% fueron significativamente (*p* < 0.0001) más bajos que los observados en los otros grupos.

La Figura 1 muestra el contenido de proteína (a) y de lípidos (b) en el músculo y en el hígado. En músculo se observó una deposición significativamente (*p* < 0.0001) menor de proteína en las truchas alimentadas con la dieta G100% con respecto al resto de los grupos. Respecto al hígado, el contenido de proteína fue significativamente (*p* < 0.0001) más bajo en el grupo control que en los grupos experimentales. La deposición de lípidos en el músculo se incrementó conforme aumentó la inclusión de GM en la dieta, por lo tanto, el grupo alimentado con la dieta G100% mostró un contenido significativamente mayor. En el hígado, el contenido de lípidos fue significativamente (*p* < 0.0001) menor en los organismos alimentados con la dieta G75% con respecto a los demás.

Tabla 2. Peso inicial (PI), peso final (PF), ganancia en peso (GP) y tasa de crecimiento específico (TCE) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) alimentados con diferentes niveles de gluten de maíz. Los valores representan la media de tres réplicas \pm error estándar. Medias con letras diferentes en la misma línea difieren significativamente ($p < 0.05$).

	Control	G50 %	G75 %	G100 %
PI (g)	14.9 \pm 0.03	14.7 \pm 0.07	14.7 \pm 0.1	14.8 \pm 0.1
PF (g)	70 \pm 5a	63 \pm 4a	56 \pm 3a	29 \pm 0.3b
GP (%)	373 \pm 29a	322 \pm 29a	284 \pm 22a	102 \pm 1b
TCE (% d ía^{-1})	1.7 \pm 0.06a	1.5 \pm 0.07 ^a	1.5 \pm 0.06a	0.8 \pm 0.005b

La Figura 2 muestra el consumo de oxígeno (a), la excreción de N (b) y de P (c). El consumo de oxígeno fue significativamente ($p < 0.0001$) menor en el grupo de organismos alimentados con la dieta control respecto de aquellos alimentados con las dietas experimentales. Los organismos alimentados con las dietas G75% y G100% mostraron los valores más altos. De la misma forma, la excreción de N (como N-NH₃) fue menor en los juveniles alimentados con la dieta control. Los organismos alimentados con las dietas experimentales no mostraron diferencias significativas entre ellos, pero los valores más bajos se observaron en la dieta G75%. Finalmente, la excreción de P (como PO₄³⁻)

no mostró diferencias significativas entre los grupos, pero se observaron valores más bajos en los organismos alimentados con las dietas G50% y G75%. Los valores más altos se registraron en los organismos alimentados en la dieta control.

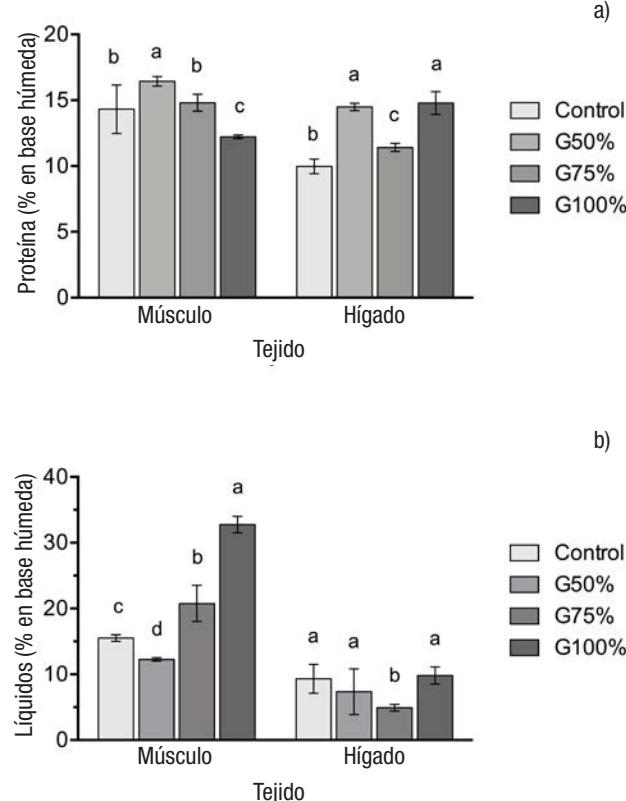
En la Figura 3a se muestra el número de linfocitos, donde el valor significativamente ($p < 0.0001$) más alto fue observado en los organismos alimentados con la dieta G50% con respecto a los demás tratamientos. Respecto a la actividad explosiva de los macrófagos (Fig. 3b) no se observaron diferencias significativas entre los grupos.

DISCUSIÓN

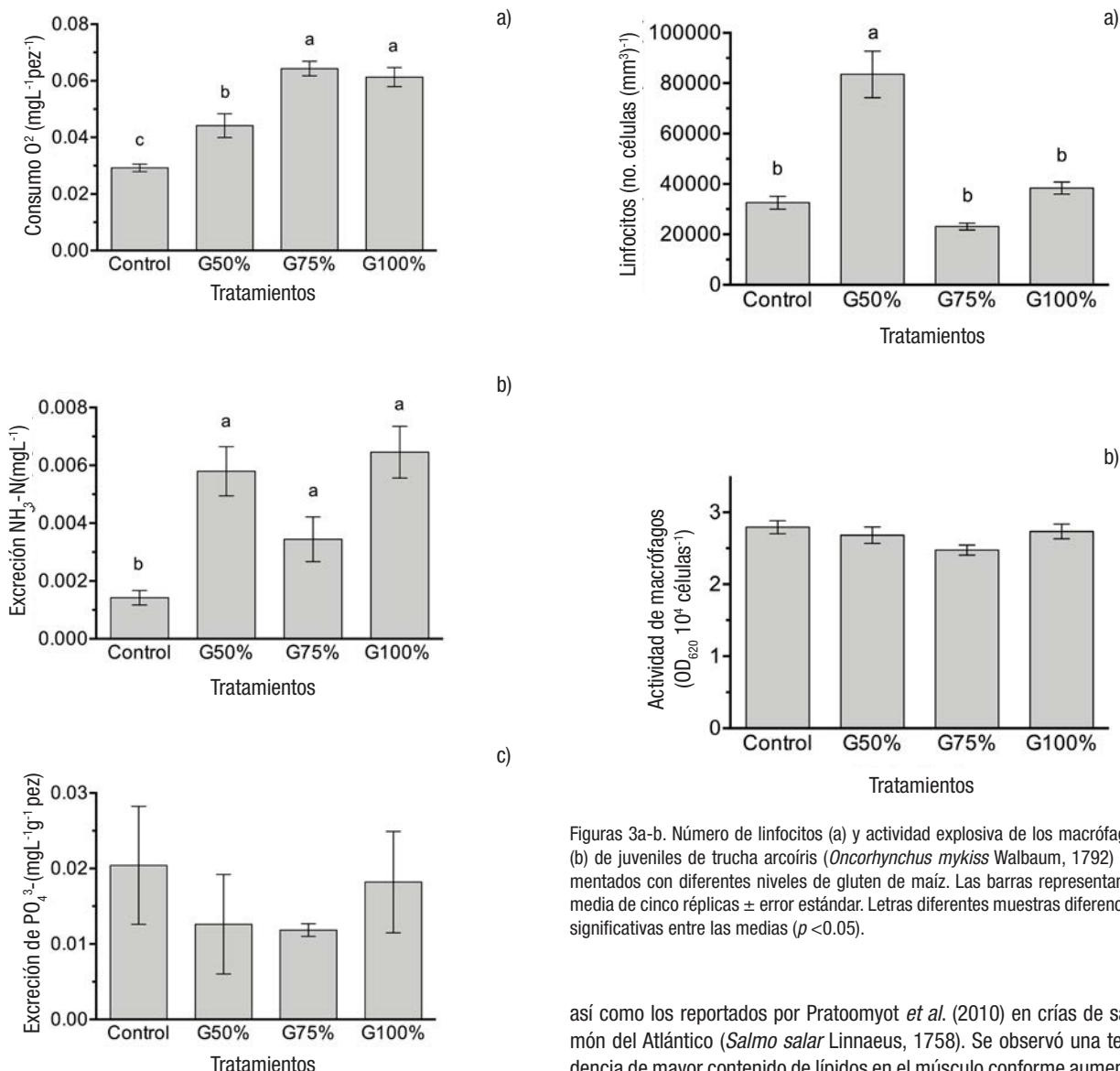
Uno de los retos que enfrenta la producción de trucha arcoíris en México es el desarrollo de nuevas formulaciones que permitan un cultivo más eficiente, tanto desde el punto de vista ambiental como económico. El GM se ha señalado como una fuente de proteína alternativa a la harina de pescado (Gatlin et al., 2007). De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, la dieta con una sustitución del 50% de la HP con el GM no afectó el crecimiento de los juveniles de trucha, la deposición de nutrientes en músculo e hígado así ni la actividad de los macrófagos.

Los organismos alimentados con la inclusión de GM mostraron una disminución en los parámetros de crecimiento determinados, particularmente aquéllos alimentados con las dietas G75% y G100%. De acuerdo con Gatlin et al. (2007) y Saez et al. (2016), la inclusión de GM en dietas de salmonídos y otras especies de peces marinos es de un máximo de 15%. Información reciente (Sicuro et al., 2017) señalan que hasta un 40% de sustitución con GM no causa efectos negativos en el crecimiento de juveniles trucha. En este trabajo se determinó que un 50% de la porción de la proteína puede ser provisto por GM. Por encima de este nivel es probable que un balance inadecuado de aminoácidos esenciales, particularmente la deficiencia de lisina del GM, afecte el crecimiento.

Los contenidos de proteína en el músculo fueron similares a los reportados por Agúllon et al. (2017) en juveniles de trucha arcoíris alimentados mediante dietas con aislado de proteína de soya y polvo de *Spirulina*. Se observó que la deposición de proteína en músculo muestra un comportamiento similar al observado por Sicuro et al. (2017), en el que a mayor inclusión de GM en la dieta, menor deposición de proteína en el músculo. De acuerdo con De la Higuera et al. (1999) la síntesis y deposición de proteína en el músculo se altera en la anguila europea (*Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758) cuando se alimenta con una dieta deficiente en aminoácidos esenciales. Se ha reportado (Gatlin et al., 2007) que el GM es deficiente en lisina, un aminoácido esencial, y que cuando se ha incluido en más de 75% como fuente de proteína en



Figuras 1a-b. Contenidos de proteína (a) y de lípidos (b) en el músculo y hígado de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), alimentados con diferentes niveles de gluten de maíz. Las barras representan la media de tres réplicas \pm error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$).



Figuras 2a-c. Consumo de oxígeno (a), excreción de nitrógeno (b) y de fósforo (c) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) alimentados con diferentes niveles de gluten de maíz. Las barras representan la media de cinco réplicas ± error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$).

la dieta, afecta no solo la deposición de proteína, sino también el crecimiento. A diferencia de la relación entre el crecimiento y la deposición de proteína en el músculo, los contenidos de proteína en el hígado muestran el papel regulatorio de este órgano, pues las dietas con las inclusiones de GM muestran una mayor deposición de proteína a pesar de la deficiencia de aminoácidos esenciales, particularmente en los organismos alimentados con las dietas G75% y G100%.

El contenido de lípidos en el músculo fue mayor a los reportados por Aguilón *et al.* (2017) y Enríquez *et al.* (2015) en crías de trucha arcoíris alimentados con diferentes productos provenientes de la soya,

Figuras 3a-b. Número de linfocitos (a) y actividad explosiva de los macrófagos (b) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) alimentados con diferentes niveles de gluten de maíz. Las barras representan la media de cinco réplicas ± error estándar. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$).

así como los reportados por Pratoomyot *et al.* (2010) en crías de salmón del Atlántico (*Salmo salar* Linnaeus, 1758). Se observó una tendencia de mayor contenido de lípidos en el músculo conforme aumentó la inclusión del GM. Previamente, se ha reportado que la deposición de lípidos en el músculo disminuye cuando se utilizan dietas con proteínas de origen vegetal, principalmente con proteína proveniente de la soya (Pratoomyot *et al.*, 2010; Aguilón *et al.*, 2017). Hasta el momento, no existen reportes de la manera en que los altos niveles de GM afectan la deposición de lípidos en el músculo, pero se considera que los organismos alimentados con las dietas G75% y G100% depositaron una mayor cantidad de lípidos para utilizarlos como fuente de energía. Los contenidos de lípidos en el hígado son similares a los previamente reportados por Aguilón *et al.* (2017) y son considerados como normales.

El consumo de oxígeno y la excreción de N pueden ser utilizados para estimar la oxidación de nutrientes y, usualmente, valores más bajos indican un mejor uso de la fuente de proteína (menos excreción) y menos energía en su oxidación (menos consumo) (Bureau *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2004). La inclusión de GM causó un aumento en la excreción de N y en el consumo de oxígeno, lo cual indica una baja utilización de la fuente de proteína, particularmente en las truchas ali-

mentadas con las dietas G75% y G100%, y que se ve reflejado en el crecimiento. Esto ya se ha observado previamente en la trucha cuando se utilizan proteínas de origen vegetal, particularmente con harina de soya (Cruz *et al.*, 2011). Por otro lado, la inclusión de GM causó un decremento en la excreción de P, aunque no se observaron diferencias significativas con respecto al grupo control. Cabe señalar que el fósforo es un constituyente del endoesqueleto, los fosfolípidos, los ácidos nucleicos y las membranas celulares (Kaushik, 2011) y que, regularmente, su fuente más importante para el organismo proviene de la dieta. Bureau y Cho (1999) señalan que el fósforo disuelto es una de las mayores preocupaciones ambientales en las operaciones de producción acuícola, pues el aumento de este elemento en las descargas de las granjas afecta a los sistemas acuáticos que las rodean al aumentar la disponibilidad de nutrientes. El uso de GM en las dietas de trucha ayudaría en la reducción de las descargas de P.

El efecto de las fuentes de proteína en la dieta puede ser evaluado con la respuesta inmune (Kiron, 2012), pues de acuerdo con Hardy (2001), un consumo insuficiente afecta el contenido de proteína en las células, lo cual puede incapacitarlas en sus funciones. Esto es particularmente crítico cuando se utilizan proteínas de origen vegetal (Tacon, 1995), por lo que la evaluación de algunos parámetros inmunológicos permite entender con mayor profundidad el efecto del GM en la trucha. De acuerdo con Scapigliati (2013), los linfocitos son células relacionadas con la respuesta inmune específica, particularmente en la producción de inmunoglobulina inducida por un antígeno. En la presente investigación se determinó el número total de linfocitos y se observaron valores similares a los reportados previamente por Jalili *et al.* (2013) y por Bohlooli y Sadeghi (2016) en juveniles de trucha arcoíris, excepto en el grupo alimentado con la dieta G50%, que mostró valores significativamente más altos. De acuerdo con Ye *et al.* (2013), el aumento en el conteo del número total de linfocitos indica una exposición a un patógeno. Durante la prueba, particularmente al final, no se observaron signos de alguna infección en los juveniles alimentados con la dieta G50%. Existe la posibilidad de que la infección estuviera en sus inicios al momento de tomar las muestras, pero no se debió al tratamiento con el GM.

La actividad explosiva es uno de los mecanismos de acción de los macrófagos, en la cual se forman especies de oxígeno reactivos, como anión superóxido y peróxido de hidrógeno (Rubio-Godoy, 2010). Esta prueba se utiliza como un indicador de cómo las dietas afectan las respuestas inmunológicas de los organismos. Las actividades de los macrófagos de los diferentes grupos reportadas en este trabajo son similares a los datos reportados por Aguillón *et al.* (2017) para juveniles de trucha arcoíris y a los de Taoka *et al.* (2006) en tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758). Aunque previamente Burrells *et al.* (1999) reportaron que la inclusión progresiva de proteínas de origen vegetal afecta la actividad de los macrófagos, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ni tampoco respecto al control, por lo que la actividad se considera dentro de los límites normales, ya que el GM no alteró esta respuesta en los 90 días de alimentación.

La presente investigación muestra que el GM puede utilizarse en una sustitución de hasta el 50% de harina de pescado en dietas para juveniles de trucha arcoíris, sin afectar el crecimiento, la deposición de nutrientes (proteína y lípidos) en músculo y en hígado, ni la actividad explosiva de los macrófagos. La dieta G50% también disminuye la excreción de P en los organismos. La inclusión del GM en las dietas

también podría tener un impacto en el costo de las dietas, pues es comparativamente más barato que la harina de pescado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM (IN213115) y al Programa de Apoyo a los Profesores de Carrera para Promover Grupos de Investigación 2016 (FESI-DIP-PAPCA-2016-16) de la FES Iztacala, así como a Ingredion México, por su valiosa donación del gluten de maíz (Glutimex) utilizado en las dietas de la prueba.

REFERENCIAS

- AGUILLÓN, H. O. E., L. H. HERNÁNDEZ, A. SHIMADA & M. GARDUÑO. 2017. Effects of diets with whole plant-origin proteins added with different ratios of taurine:methionine on the growth, macrophage activity and antioxidant capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Veterinary and Animal Science* 3: 4-9. DOI: [10.1016/j.vas.2017.04.002](https://doi.org/10.1016/j.vas.2017.04.002)
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST). 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of Analytical Chemistry, Virginia, USA, pp. 69-78.
- AZEVEDO, P., S. LEESON, C. Y. CHO & D. P. BUREAU. 2004. Growth, nitrogen and energy utilization of juveniles from four salmonid species: diet, species and size effects. *Aquaculture* 234: 393-414. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2004.01.004](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.004)
- BLIGHT, E. G. & W. J. DYER. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37: 911-917. DOI: [10.1139/o59-099](https://doi.org/10.1139/o59-099)
- BOHLOULI, S. & E. SADEGHI. 2016. Growth performance and haematological and immunological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings supplemented with dietary *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. *Acta Veterinaria Brno* 85: 231-238. DOI: [10.2754/avb201685030231](https://doi.org/10.2754/avb201685030231)
- BUREAU, D. P., S. J. KAUSHIK & C. Y. CHO. 2002. Bioenergetics. In: Halver, J. E. & R. W. Hardy (eds). *Fish nutrition*. Academic Press, San Diego, USA, pp. 1-59.
- BUREAU, D. P. & C. Y. CHO. 1999. Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): estimations of dissolved phosphorus waste output. *Aquaculture* 179: 127-140. DOI: [10.1016/S0044-8486\(99\)00157-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00157-X)
- BURRELLS, C., P. D. WILLIAMS, P. J. SOUTHGATE & V. O. CRAMPTON. 1999. Immunological, physiological and pathological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentration of soybean proteins. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 72: 277-288. DOI: [10.1016/S0165-2427\(99\)00143-9](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(99)00143-9)
- CLESCHERI, L. S., A. E. GREENBERG & A. E. EATON. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th, American Public Health Association, E.U. 1325 p.
- CHUNG, S. & C. J. SECOMBES. 1988. Analysis of events occurring within teleost macrophages during the respiratory burst. *Comparative*

- Biochemistry and Physiology B*, 89: 539-544. DOI: 10.1016/0305-0491(88)90171-X
- CONAPESCA (COMISIÓN NACIONAL DE ACUACULTURA Y PESCA). 2015. *Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2014*. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, México. 303 p.
- CRUZ, C. C. A., L. H. HERNÁNDEZ, M. A. FERNÁNDEZ, T. RAMÍREZ & O. ÁNGELES. 2011. Effects of diets with soybean meal on the growth, digestibility, phosphorus and nitrogen excretion of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Hidrobiológica* 21: 118-125.
- DE LA HIGUERA, M., H. AKHARBACH, M. C. HIDALGO, J. PERAGÓN, J. A. LUPIÁNEZ & M. GARCÍA-GALLEGO. 1999. Liver and white muscle protein turnover rates in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects of dietary protein quality. *Aquaculture* 179: 203-216. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00163-5
- ENRÍQUEZ, R. M. L., E. A. RAMÍREZ, L. H. HERNÁNDEZ & M. A. FERNÁNDEZ. 2015. Effect of the substitution of fish oil with a mixture of plant-based oils in diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) fingerlings on growth, phosphorus and nitrogen excretion. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. IJA_67.2015.1217: 1-9.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). 2014. *Manual práctico para el cultivo de trucha*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Guatemala. 44 p.
- GATLIN, D. M., F. T. BARROWS, P. BROWN, K. DABROWSKI, T. G. GAYLORD, R. W. HARDY, E. HERMAN, G. HU, Å. KROGDAHL, R. NELSON, K. OVERTURF, M. RUST, W. SEALEY, D. SKONBERG, E. J. SOUZA, D. STONE, R. WILSON & E. WURTELE. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38: 551-579. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x
- GERILE, S. & J. PIRHONEN. 2017. Replacement of fishmeal with corn gluten in feeds for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) does not affect oxygen consumption during forced swimming. *Aquaculture* 479: 616-618. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.07.002
- HARDY, R. W. 2001. Nutritional deficiencies in commercial aquaculture: likelihood, onset and identification. In: Lim, C. & C. D. Webster (eds). *Nutrition and Fish Health*. The Harworth Press, Inc., New York, pp. 131-147.
- HARDY, R. W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research* 41: 770-776. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02349-x
- JALILI, R., A. TUKMECHI, N. AGH, F. NOORI & A. GHASEMI. 2013. Replacement of dietary fish meal with plant sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); effect on growth performance, immune responses, blood indices and disease resistance. *Iranian Journal of Fisheries Science* 12: 577-591.
- KAUSHIK, S. J. 2001. Mineral nutrition. In: Guillaume, J., S. J. Kaushik, P. Bergot & R. Méttailler (eds). *Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans*. Praxis Publishing, Chichester, U.K., pp. 169-181.
- KIRON, V. 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology* 173: 111-133.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 2011. *Nutrient requirements of fish and shrimps*. The National Academic Press. Washington DC, USA. 376 p.
- PRATOOMYOT, J., E. Å. BENDIKSEN, J. G. BELL & D. R. TOCHER. 2010. Effects of increasing replacement of dietary fishmeal with plant protein sources on growth performance and body lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 305: 124-132. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.04.019
- RUBIO-GODOY, M. 2010. Teleost fish immunology, review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 1: 47-57.
- SAEZ, P. J., E. S. M. ABDEL-AAL & D. P. BUREAU. 2016. Feeding increasing levels of corn gluten meal induces suboptimal muscle pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 47: 1972-1983. DOI: 10.1111/are.12653
- SCAPIGLIATI, G. 2013. Functional aspects of fish lymphocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 41: 200-208. DOI: 10.1016/j.dci.2013.05.012
- SECOMBES, C. J. 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen, J. S., T. C. Fletcher, D. P. Anderson, B. S. Robertson, & W. B. van Muiswinkel (eds). *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publications, N.J., EU, pp. 139-154.
- SICURO, B., S. BARBERA, F. DAPRÁ, F. GAI & E. MACCHI. 2017. Corn gluten high level inclusion in farmed trout nutrition: productive and hematological effects and quality of product. *Progress in Nutrition* 19: 323-331. DOI: 10.23751/pn.v19i3.4816
- TACON, A. G. J. 1995. Fish meal replaces: review of antinutrients within oilseeds and pulses – a limiting factor for the aquafeed green revolution. In: *Feed Ingredients Asia'95 Conference*, 19-21 September, pp. 23-48.
- TAOKA, Y., H. MAEDA, J. Y. JO, S.M. KIM, S. I. PARK, T. YOSHIKAWA & T. SAKATA. Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science* 72: 755-766. DOI: 10.1111/j.1444-2906.2006.01215.x
- YE, J., I. M. KAATTARI, C. MA & S. KATTARI. 2013. The teleost humoral immune response. *Fish & Shellfish Immunology* 35: 1719-1728. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.10.015
- ZAR, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4th ed. Prentice Hall. New Jersey, USA. 663 p.

Estructura poblacional y biología reproductiva del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae) capturado en la pesca artesanal de Oaxaca, México

Population structure and reproductive biology of the scalloped hammerhead *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae) caught in artisanal fisheries of Oaxaca, Mexico

María del Carmen Alejo-Plata^{1*}, Miguel Angel Ahumada-Sempoal¹, Genoveva Cerdáñares Ladrón de Guevara¹ y José Luis Gómez-Márquez²

Recibido: 23 de diciembre de 2016.

Aceptado: 24 de septiembre de 2018.

Publicado: 05 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: *Sphyrna lewini* es una especie semioceánica y cosmopolita distribuida en aguas tropicales y templadas. En el océano Pacífico tropical noreste presenta una importante contribución a la biomasa de la pesca artesanal. **Objetivos:** Este estudio se propuso analizar la distribución de tallas y aspectos reproductivos de *S. lewini* en la costa de Oaxaca, México. **Métodos:** Entre agosto de 2001 y diciembre de 2007 se recolectaron 388 hembras y 434 machos en cuatro sitios de desembarco de la flota artesanal de la costa de Oaxaca. **Resultados:** La longitud total fue de 44-332 cm en hembras y 44-308 cm en machos. Las capturas estuvieron conformadas por neonatos (24.3%, 44-74 cm), juveniles (42.2%, 75-170 cm) y adultos (33.5%, >170 cm). Las mayores capturas se registraron en lluvias (85.5%), con predominancia de juveniles y adultos y una mayor proporción de machos; en temporada de secas (15.5% de las capturas) prevalecieron tallas mayores a 100 cm en ambos sexos. Las hembras alcanzan la talla de primera madurez (LT_{50}) a los 199 cm y los machos a los 181 cm. Se registraron 37 hembras grávidas con tallas de 175 a 281 cm, entre los meses de abril y agosto. La fecundidad osciló de 15 a 42 embriones, con tallas entre 44 y 54 cm. **Conclusiones:** Los resultados identifican a la costa de Oaxaca, en el sur del Pacífico mexicano, como una área importante para la reproducción de *S. lewini*, cuya información es relevante para el manejo y conservación de esta especie.

Palabras clave: embriones, golfo de Tehuantepec, madurez sexual, neonatos, pesca artesanal

¹ Universidad del Mar, Campus Puerto Ángel, Ciudad Universitaria, San Pedro Pochutla, Oaxaca, 70902

² Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México

Author for correspondence:
plata@angel.umar.mx

To cite as:

Alejo-Plata M. del C., M. A. Ahumada-Sempoal, G. Cerdáñares Ladrón de Guevara y J. L. Gómez-Márquez. 2018. Estructura poblacional y biología reproductiva del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae) capturado en la pesca artesanal de Oaxaca, México. *Hidrobiológica* 28 (3): 265-275.

DOI:10.24275/uam/itz/dcbs/hidro/2018v28n3/
Alejo

ABSTRACT

Background: *Sphyrna lewini* is a semi-oceanic and cosmopolitan species globally distributed throughout tropical and warm temperate seas. In the northeastern tropical Pacific, this species is an important contributor to the biomass of artisanal fisheries. **Goals:** The aim of this study was to examine the length frequency distribution and reproductive aspects of *S. lewini* in Oaxaca, Mexico. **Methods:** Samples were taken from August 2001 to December 2007 in four landing sites of the artisanal fleet on the coast of Oaxaca. **Results:** The samples included 388 females and 434 males. Total length ranged from 44 to 332 cm for females and from 44 to 308 cm for males. The catches were made up of neonates (24.3%, 44-74 cm), juveniles (42.2%, 75-170 cm), and adults (33.5%, > 170 cm). The most abundant catches were recorded in the rainy season (85.5%), with a predominance of juveniles and adults, and a higher proportion of males. The remaining 15.5% of catches, recorded in the dry season, had a predominance of larger sizes (>100 cm) in both sexes. The females reached sexual maturity (TL_{50}) at 199 cm and the males at 181 cm. 37 gravid females with sizes between 175 and 281 cm were registered from April to August. Gravid females had between 15-42 embryos, varying from 44-54 cm. **Conclusion:** The results of this study identify the coast of Oaxaca as an important area for the reproduction of *S. lewini* on the southern Pacific coast of Mexico, providing information for management and conservation of this species

Keywords: artisanal fishery, embryos, Gulf of Tehuantepec, neonates, sexual maturity

INTRODUCCIÓN

Los tiburones son un grupo de depredadores tope, importantes dentro del ecosistema marino y vulnerables a la sobreexplotación pesquera, debido entre otras cosas, a las características particulares de su historia de vida (Watson *et al.*, 2009). El tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) se caracteriza por ser una especie migratoria, de hábitos pelágicos y costeros, de aguas cálidas (Compagno, 1984), cuyos individuos se agregan en grandes cardúmenes (Simpfendorfer & Heupel, 2004), lo cual hace a sus poblaciones vulnerables a la pesca industrial en aguas oceánicas, a la pesca camaroneña semiindustrial y a la pesca artesanal en zonas costeras (López-Martínez *et al.*, 2010).

Hace algunas décadas, *S. lewini* era considerada una especie con potencial de explotación por su abundancia (FAO, 1999); sin embargo, dada la sobreexplotación de sus poblaciones, actualmente se encuentra incluida, desde 2006, como especie amenazada en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) (Chapman *et al.*, 2009) y en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Flora y Fauna (CITES, por sus siglas en inglés).

Sphyrna lewini es una especie semioceánica con distribución global en aguas tropicales y templadas cálidas (Compagno, 1984). Presenta segregación espacial entre adultos y juveniles (Klimley, 1987). Las hembras paren a sus crías en sitios protegidos, ricos en alimento, cercanos a la costa y de aguas someras, denominados "áreas de crianza" (Clarke, 1971; Castro, 1993; Merson & Pratt, 2001; Heupel *et al.*, 2007). Una vez alcanzada la madurez sexual, inician sus migraciones cambiando los hábitats costeros por zonas de aguas oceánicas y pelágicas donde se reduce la competencia intraespecífica (Simpfendorfer & Milward, 1993; Duncan & Holland, 2006).

Debido a su amplia distribución e importancia pesquera, se han llevado a cabo estudios sobre sus aspectos reproductivos en diferentes partes del mundo (Clarke, 1971; Bass *et al.*, 1975; Branstetter, 1987; Stevens & Lyle, 1989; Cappe *et al.*, 1998; Lessa *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 1998; Hazin, 2001; White *et al.*, 2008; Zanella & López-Garro, 2015). En México se cuenta con los estudios de Torres-Huerta *et al.* (2009) para el golfo de California, Anislado-Tolentino & Robinson-Mendoza (2001) para el Pacífico central, y Soriano *et al.* (2006) y Bejarano *et al.* (2011) para el Pacífico sur.

Sphyrna lewini es una de las especies objetivo más importantes en el Pacífico mexicano, tanto en las pesquerías artesanales como en las de mediana altura, lo cual representa el 37% de las capturas (DOF, 2004). El golfo de California y el golfo de Tehuantepec (litoral de los estados de Oaxaca y Chiapas) han sido considerados como reservorios de diversidad genética de la especie (Castillo-Olgún *et al.*, 2011). Sin embargo, en el caso del golfo de Tehuantepec, los estudios son escasos, a pesar de que Puerto Chiapas es el punto de mayor descarga de tiburón en el país, donde *Carcharhinus falciformis* y *Sphyrna lewini* representan el 89% de las capturas (Soriano *et al.*, 2006), y de que en Oaxaca ambas especies conforman el 37% de las capturas por la pesca artesanal (Alejo-Plata *et al.*, 2006a; Alejo-Plata *et al.*, 2009).

El presente estudio analiza la estructura y dinámica poblacional de *Sphyrna lewini*, a partir de las tallas, proporción de sexos, fecundidad, época y talla de nacimiento en las capturas de la pesca artesanal de la costa de Oaxaca, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

La zona de estudio corresponde a la parte centro-oeste del golfo de Tehuantepec en la costa de Oaxaca (Fig. 1). De acuerdo con la batimetría extraída de la base de datos ETOPO2 (<http://www.ngdc.noaa.gov/mgg/global/etopo2.html>), considerando la isobata de los 200 m como el límite de la plataforma continental, ésta se ensancha hacia el este, alcanza una amplitud máxima de ~106.8 km a los 93°-94°W y se reduce hacia el oeste, con una amplitud mínima de ~17.8 km a los 95.5°W (Fig. 1).

La región se caracteriza por la presencia de lluvias de mayo a octubre y por secas de noviembre a abril, como se muestra en la Fig. 2, la cual fue construida con registros de la base de datos histórica de la estación meteorológica automática (EMA) del Servicio Meteorológico Nacional (SMN), localizada en Puerto Ángel, Oaxaca (15°40'16" N, 96°29'50" W) a una altitud de 91 m sobre el nivel medio del mar (<http://smn.cna.gob.mx/emas>), y con datos de imágenes nivel 3 con resolución de 4km del MODIS-Aqua (<http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/>).

Por otro lado, de acuerdo con Reyes y Mejía-Trejo (1991), durante los meses de mayo y junio se activa la formación de tormentas tropicales y huracanes en el Pacífico noreste, la cual se extiende hasta los meses de octubre y noviembre. Otra característica atmosférica de gran importancia en el golfo de Tehuantepec es el arribo (principalmente entre noviembre y abril) de vientos del norte, o "Tehuanos", con intensidades mayores que 10 m/s y duración típica de 2 a 6 días (Lavín *et al.*, 1992; Romero-Centeno *et al.*, 2003). Estos episodios de viento contribuyen a que las aguas del golfo sean relativamente productivas y frías comparadas con sus alrededores (Trasviña *et al.*, 1995), rasgos claramente visibles en imágenes de satélite (<https://oceancolor.gsfc.nasa.gov>) como una lengua de concentraciones comparativamente altas de Clorofila-a (>1.0 mg/m³) y temperatura superficial del mar relativamente baja (~17 °C). La formación de esta lengua de agua fría, en esta época del año, fragmenta la alberca de agua cálida del Pacífico este (temperatura superficial del mar por arriba de 28.5 °C; Wang & Enfield, 2001).

De agosto de 2001 a diciembre de 2007 se efectuaron muestreos en las capturas de la flota artesanal de Oaxaca. El trabajo de campo se realizó durante dos días a la semana en Puerto Escondido, Puerto Ángel-San Agustínillo, Huatulco, y quincenalmente en la ensenada Chipehua (Fig. 1). Alejo-Palta *et al.* (2016) mencionan que en la región se encuentran tres unidades pesqueras artesanales que capturan tiburón: la unidad tiburonera (pesca dirigida), la unidad pelágica y la unidad demersal (ambas con captura incidental de tiburones).

Los ejemplares fueron identificados con las claves taxonómicas de Compagno (1984) y se clasificaron de acuerdo con los criterios de Clark & von Schmidt (1965), Pratt (1979) y Castro (1993) como neonatos (organismos con cicatriz umbilical abierta), juveniles del año (JUA, organismos de nado libre y con cicatriz umbilical parcialmente cerrada), juveniles y adultos. Debido a las características de desembarque y manejo del tiburón en playa, donde estos fueron descargados sin eviscerar, fue posible determinar los estados de madurez y fecundidad, así como el número, sexo y talla de los embriones.

El sexo se registró a partir de la presencia o ausencia de mixopterigios (órgano copulador), se midió su longitud (mm) y observó el grado de calcificación. Con base en los criterios de Clark & Von Schmidt (1965) y Castro (1993), los machos que presentaron mixopterigios cor-

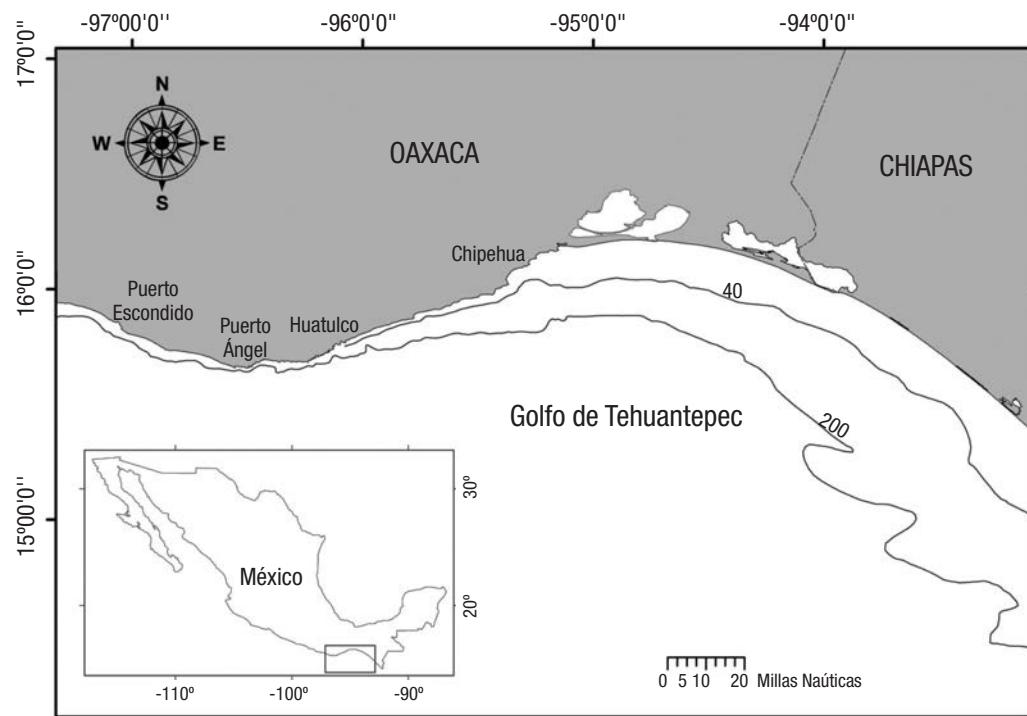


Figura 1. Área de estudio en la costa de Oaxaca. El límite de la plataforma continental está representado por la isóbata de 200 m. La batimetría fue obtenida de la base de datos ETOP02. (<http://www.ngdc.noaa.gov/mgg/global/etopo2.html>).

tos y suaves se consideraron como inmaduros o juveniles; los machos fueron catalogados como maduros cuando los mixopterigios sobrepasaban el extremo posterior de las aletas pélvicas, se encontraban calcificados y rotaban fácilmente.

Las hembras se consideraron maduras cuando se observaron ovocitos vitelígenos y vascularizados (cuando fue posible se midieron los ovocitos de mayor diámetro), glándulas oviductuales grandes y úteros desarrollados o, bien, si contenían huevos o embriones (Liu *et al.*, 1999). En el caso de hembras preñadas, los embriones fueron contados, y se revisó su sexo y longitud total (LT, al 0.5 cm inferior); cuando las actividades de pesca lo permitieron, se registró el diámetro del ovocito de mayor tamaño y más cercano al oviducto.

Con el fin de obtener los datos biométricos utilizados para recobrar información de organismos eviscerados, sin aletas y sin cabeza (en esta región y en otras de México, se denominan “troncho”), se registró (al 0.5 cm inferior) la longitud total (LT), longitud furcal (Lf) y longitud del troncho (L_{tr}, medida entre la última abertura branquial y la muesca precaudal). Para obtener la LT de los organismos sin cabeza se utilizó la relación lineal por medio del método de mínimos cuadrados entre LT y L_{tr}.

Los datos de las tallas por sexo se agruparon trimestralmente (enero-marzo, abril-junio, julio-septiembre, octubre-diciembre) y se analizaron por temporadas, de lluvias (mayo-octubre) y secas (noviembre-abril); para comparar las tallas entre ambas temporadas se aplicó el método no paramétrico Kruskal-Wallis, debido a que los datos no presentan homocedasticidad (Zar, 1999).

Las longitudes se representaron en histogramas de frecuencia, y para determinar las modas observadas se realizó un análisis multimodal de las frecuencias de tallas (LT) que se ajustó con la función de máxima verosimilitud propuesta por Haddon (1991).

Se determinó la proporción de sexos a partir de la relación entre el número de hembras y machos (H:M) registrados en las capturas; se utilizó la prueba estadística Chi cuadrada (χ^2) aplicando la corrección de Yates para determinar si la proporción de sexos por estado ontogénico y por mes se desviaba de la relación 1:1 (Zar, 1999). En el caso de los embriones, se calculó la proporción media de las hembras por camada y se comparó con el valor teórico de 0.5; se consideró como unidad muestral a la madre de la camada (Walker, 2005).

La longitud en la que el 50% de los tiburones están maduros (L_{50}) se determinó para hembras y machos, y también se estimó la talla de maternidad (L_{50} de maternidad) (Mollet *et al.*, 2000; Corro-Espinosa *et al.*, 2011; Soto-López *et al.*, 2018) para hembras por medio de la función logística:

$$Fm = \frac{1}{1 + e^{-a(L_i - L_{50})}}$$

Donde, Fm es la fracción de tiburones maduros (o fracción de hembras preñadas), L_i la longitud total, los parámetros a y L_{50} fueron estimados ajustando la función mediante el criterio de máxima verosimilitud (Haddon, 2001); el valor de a representa la pendiente de la curva que describe la tasa de cambio de hembras inmaduras a hembras maduras y L_{50} la talla a la cual el 50% de la población se encuentra madura.

La fecundidad se estimó en cada hembra preñada contando los embriones presentes en cada útero. La fecundidad (F) para *S. lewini* fue correlacionada con la LT. Para analizar el patrón estacional en el crecimiento de los embriones, se agruparon las muestras de 2001 a 2007 a fin de construir un “año tipo”. Para establecer el período de gestación se consideró el crecimiento promedio mensual en longitud total de los embriones; la talla de nacimiento se estimó como el promedio entre la talla máxima del embrión observada y la talla mínima del individuo de nado libre capturado en el mismo tiempo y lugar (Pratt & Casey, 1990).

RESULTADOS

Tallas y proporción de sexos. La distribución de frecuencias de tallas de *S. lewini* fue estimada en un total de 822 individuos. Se registraron 388 hembras con intervalo de tallas de 44 a 332 cm LT (Media = 104.5, DE = 56.1) y 434 machos con intervalo de tallas de 44 a 308 cm LT (Media = 131.2, DE = 75.9).

Las capturas estuvieron conformadas por neonatos (24.3%, 44-74 cm LT), juveniles del año y juveniles (42.2%, 75-170 cm LT), y adultos (33.5% > 170 cm LT).

Para poder realizar la comparación de la talla con trabajos previos, los resultados se reportaron en LT. Las relaciones biométricas mostraron un alto nivel de asociación entre las variables, el cual está representado por los valores de R^2 en las siguientes expresiones:

$$\text{Machos} \quad \text{LT} = 1.86\text{Ltr} + 13.78 \quad (R^2=0.95, n = 200, p < 0.05)$$

$$\text{Hembras} \quad \text{LT} = 1.92\text{Ltr} + 11.87 \quad (R^2=0.91, n = 156, p < 0.05)$$

El análisis multinomial mostró para las hembras tres modas, las cuales corresponden a neonatos (media = 63.5 cm LT, DE = 7.4), juveniles (media = 134.2 cm LT, DE = 9.7) y adultos (media = 209.0 cm LT, DE = 7.4) (Fig. 3a). Los machos presentaron cuatro modas, neonatos (media = 62.0 cm LT, DE = 5.8), juveniles con dos modas (media = 102.5 cm LT, DE = 20.9; media = 142.6 cm LT, DE = 7.6) y adultos (media = 235.9 cm LT, DE = 25.5) (Fig. 3b).

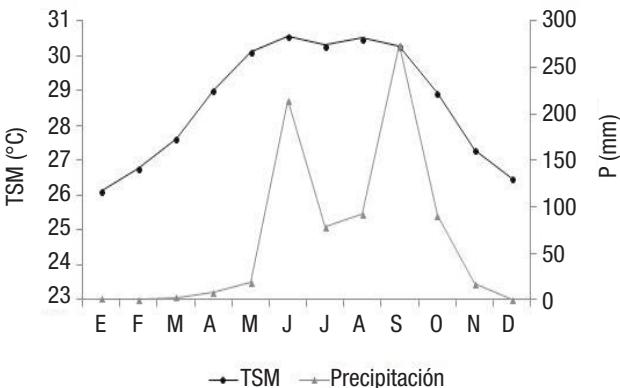
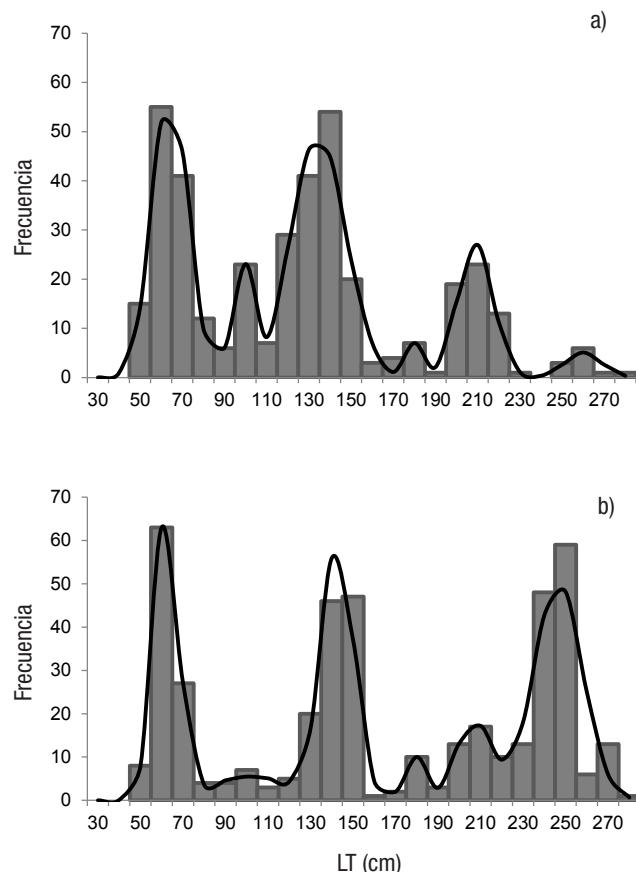


Figura 2. Promedios mensuales de precipitación (P) ($15^{\circ}40'16''$ N, $96^{\circ}29'50''$ O) y de temperatura superficial del mar (TSM) en la costa de Oaxaca durante el período de 2001 a 2007.

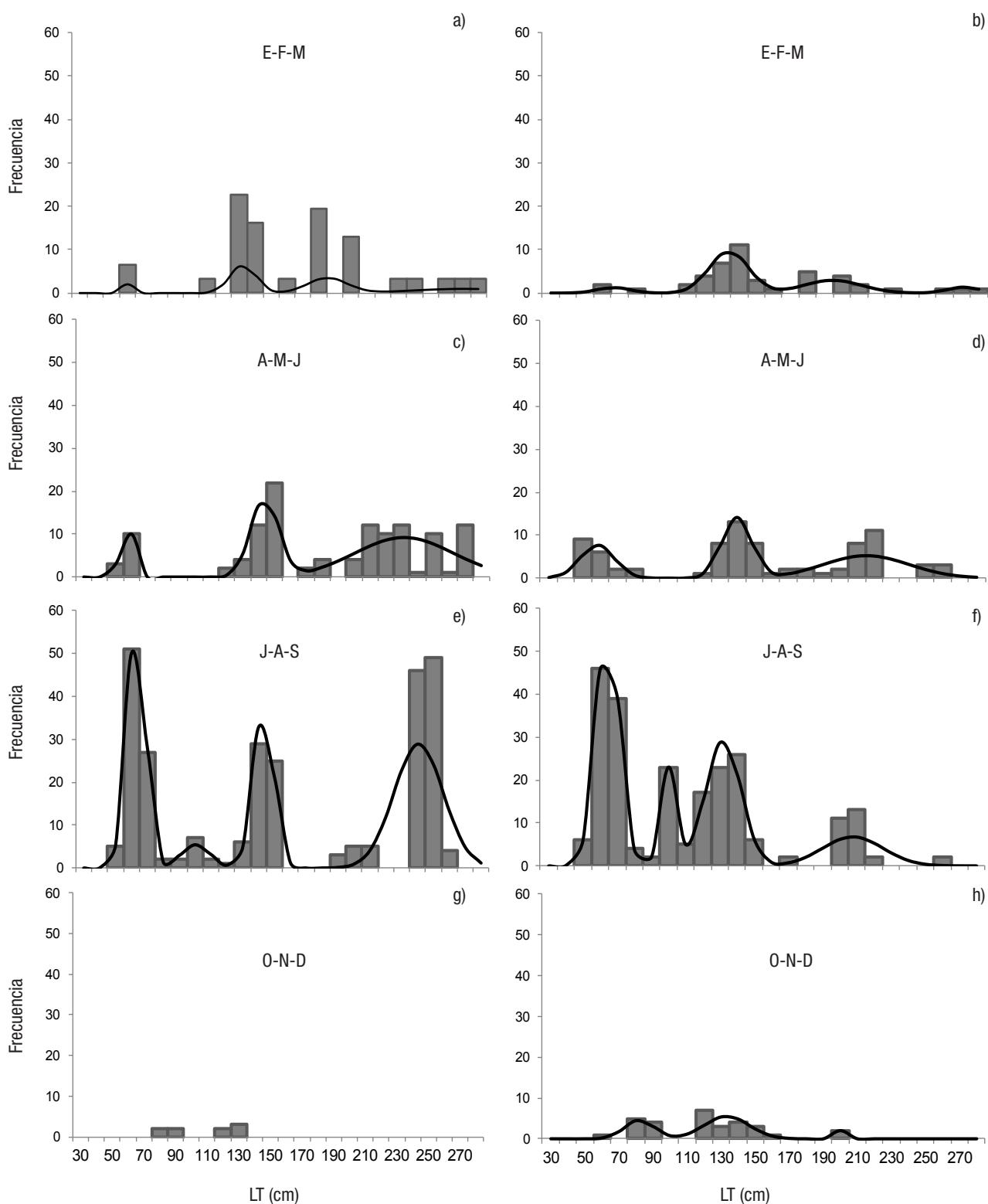
La proporción de sexos en los neonatos y juveniles del año (JUA) fue 1:1 ($\chi^2_{0.05,1} = 0.087, p > 0.05$), para juveniles se observó predominio de las hembras (1H:0.6M; $\chi^2_{0.05,1} = 15.78, p < 0.05$), a diferencia de los adultos, donde se obtuvo una proporción de sexos de 1H:2.6M ($\chi^2_{0.05,1} = 54.12, p < 0.05$).

En la temporada de secas (noviembre-abril) se registraron bajas capturas de *S. lewini* (15.5%) con un predominio de tallas mayores a 100 cm LT en ambos sexos; las mayores capturas (85.5%) se observaron en la temporada de lluvias (mayo-octubre). Los neonatos fueron observados en cada uno de los trimestres del año, pero con una mayor frecuencia de julio a septiembre, donde se produce una clase modal de 50 a 60 cm LT. La clase modal de esta cohorte se incrementa de 70 a 80 cm LT de octubre a diciembre y de 120 a 140 cm LT en el trimestre enero-marzo; de abril a junio se observaron nuevamente neonatos (Fig. 4).

De octubre a diciembre y de enero a marzo se observó una predominancia de hembras (3H:1M, $\chi^2_{0.05,1} = 9, p < 0.05$; 1.5H:1M, $\chi^2_{0.05,1} = 1.49, p < 0.05$ respectivamente) y se registraron las menores tallas, así como tamaños de muestra relativamente bajos (Fig. 3). Las mayores capturas se registraron de abril a junio (24.9%) y de julio a septiembre (60.8%); en ambos trimestres se observaron los intervalos de talla más amplios, con predominancia de juveniles y adultos y una mayor proporción de machos (1M:0.7H, $\chi^2_{0.05,1} = 6.32, p < 0.05$ y 1M:0.8H, $\chi^2_{0.05,1} = 5.2, p < 0.05$, respectivamente) (Fig. 4).



Figuras 3a-b Estructura de tallas por sexo de *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834), capturados por la pesca artesanal en la costa de Oaxaca durante el período de 2001 a 2007. La línea continua indica las modas obtenidas a partir del análisis multinomial. a) Hembra; b) Macho.



Figuras 4a-h. Estructura de tallas por trimestre de *Sphyraña lewini* (Griffith & Smith, 1834), capturado por la pesca artesanal en la costa de Oaxaca durante el período de 2001 a 2007. La línea continua indica las modas obtenidas a partir del análisis multinomial. a-b) Trimestre enero a marzo; c-d) Trimestre abril a junio; e-f) Trimestre julio a septiembre; g-h) Trimestre octubre a diciembre. a, c, e, g) Hembras; b, d, f, h) Machos.

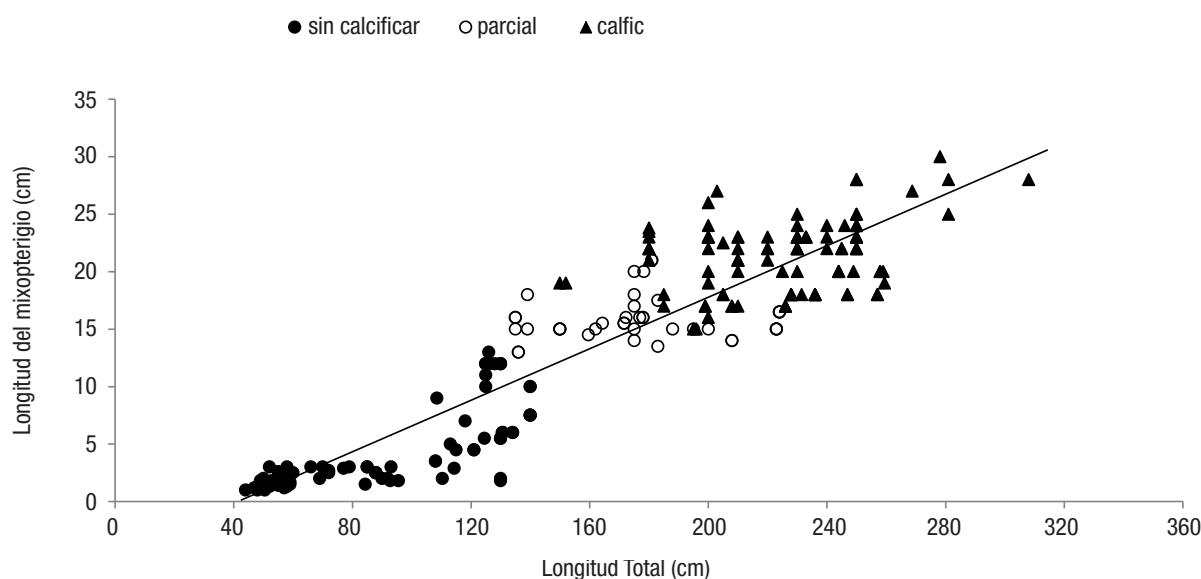


Figura 5. Relación entre la longitud del mixopterigio y la longitud total en machos de *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) capturados por la pesca artesanal en la costa de Oaxaca (Méjico) durante el periodo de 2001 a 2007. n = 284.

Aspectos reproductivos. La relación entre la longitud del mixopterigio (Lm) y la LT se describe con la ecuación $Lm = 0.1112LT - 4.4417$ ($R^2=0.86, p<0.001$). Los machos con una LT < 140 cm que tenían el mixopterigio sin calcificar se clasificaron como inmaduros. El comienzo de la madurez sexual se presentó alrededor de 120 cm LT, cuando la longitud del mixopterigio se incrementó abruptamente y con una estructura semirígida. Los machos maduros con mixopterigio totalmente calcificado se observaron a los 155 cm LT y todos los machos mayores a 190 cm LT estaban maduros. Organismos con mixopterigio mayor de 200 mm tenían fluido seminal y algunos presentaron hematomas; este órgano experimenta un lento crecimiento durante el periodo en que no hay calcificación; por lo tanto, aumenta su longitud notablemente al inicio de su calcificación, y por ende, su maduración (Fig. 5).

Las hembras maduras se registraron a partir del intervalo de clase de 160-170 cm LT. La LT_{50} estimada fue de 198.8 ± 1.7 cm (intervalo de confianza 95%; Fig. 6a). La madurez sexual en machos se presentó a partir del intervalo de 120-125 cm LT, la LT_{50} estimada fue de 181 ± 4.14 cm (intervalo de confianza 95%; Fig. 6b).

Se registraron 37 hembras grávidas con tallas de 175 a 281 cm LT (media = 221.96, DE = 31.48) entre los meses de abril a agosto; la LT_{50} de maternidad estimada fue de 205 cm LT (Fig. 6a).

De 985 embriones pertenecientes a 37 hembras, se midieron y sexaron 519 organismos, con lo cual se determinó que no existieron diferencias significativas en la proporción de sexos ($\chi^2_{0.05,1} = 2.51, p > 0.05$) o camadas individuales ($\chi^2_{0.05,1} = 0.028-0.64, p > 0.05$). Las camadas estuvieron conformadas de 15 a 42 embriones con un promedio de 26 crías (DE = 9). La fecundidad en número de crías se describió con la ecuación $F = 0.2094LT - 19.433$ ($R^2= 0.53, p < 0.001$).

Además, se observaron ovocitos con un diámetro de 1-5 cm, cuya muestra correspondió únicamente a 5 hembras, debido a la dificultad

para obtener la medida de éstos cuando se están procesando los tiburones en playa.

En agosto se registraron embriones grandes con talla de 54 cm de LT; el neonato más pequeño, que se capturó en julio, tenía una talla de 44 cm de LT. Los neonatos oscilaron en talla desde 44 hasta 64 cm de LT (media = 62.5; DE = 6.6), por lo tanto, se podría esperar que el nacimiento de estos embriones se produjera con tallas entre 44 y 54 cm LT. Los recién nacidos se observaron en cada trimestre del año, pero fueron más frecuentes entre julio y septiembre, durante la temporada de lluvias, cuando la temperatura superficial del mar es la más elevada del año (29 a 31 °C; Fig. 2). El periodo de gestación de *S. lewini* para la costa de Oaxaca se consideró de 10 a 11 meses.

DISCUSIÓN

La costa de Oaxaca se caracteriza por tener importantes sistemas lagunares y bahías, lo que conforma un ambiente propicio para una especie tropical de hábitos gregarios y costeros como *S. lewini* (Last & Stevens, 1994). En la zona de estudio, los resultados muestran que el tiburón martillo se acerca a la costa dependiendo de la alternancia del régimen lluvias y secas característico de la región. Las mayores capturas (85.5%) se presentaron en la temporada de lluvias, cuando la presencia de *S. lewini* en la zona de estudio en conjunto con el limitado radio de operación de las embarcaciones de pesca artesanal (Alejo-Plata et al., 2006; 2006a) favorecieron su pesca.

En Oaxaca las capturas de *S. lewini* registraron diferencias de acuerdo con la talla, sexo, temporada del año y arte de pesca. Los neonatos, JUA y juveniles pequeños se presentaron a lo largo del año, con un pico de abundancia de julio a septiembre; su captura se realizó por la unidad de pesca demersal, la cual utiliza redes de enmallaje y opera en los "bajos" (aguas poco profundas y protegidas) próximos a la costa, en

las bahías y cerca de las bocabarras de los ríos Copalita, Tonameca, Río Grande y los Perros (Alejo-Plata *et al.*, 2006; 2006a). Las tallas de los neonatos y JUA capturados por la pesca artesanal sugiere que permanecen por varios meses en estas áreas; de acuerdo con Castro (1993) las aguas someras incrementan su probabilidad de sobrevivencia al brindarles mayor protección de sus depredadores. En otras localidades del Pacífico mexicano también se han reportado capturas de neonatos de *S. lewini* en aguas poco profundas. Así lo asentaron Torres-Huerta *et al.* (2009) en la costa este del golfo de California durante julio, Anislado-Tolentino (2000) en la costa de Michoacán entre julio y agosto, en aguas que no sobrepasan los 50 m, y Campuzano-Caballero (2002) en la costa de Chiapas de mayo a agosto.

Los juveniles grandes permanecen todo el año en la zona de estudio; su mayor abundancia se presentó a finales de la temporada de lluvia. Fueron capturados con palangres de superficie por la unidad de pesca pelágica que opera entre 5 y 20 millas de la costa (Alejo-Plata *et al.*, 2006; 2006a), lo que indica que se desplazan a aguas más alejadas de la costa. Saucedo-Barrón *et al.* (1982), en un estudio en la costa de Sinaloa, atribuye este desplazamiento a dos posibles causas: a la necesidad de condiciones diferentes para alimentarse y alcanzar la madurez sexual y a su distribución en la columna de agua, las cuales los hace poco vulnerables a las artes de pesca.

Los adultos fueron capturados por la unidad de pesca tiburonera de palangre, que opera alejada de la costa en un radio de 30 a 50 millas (Alejo-Plata *et al.*, 2006; 2006a), esto indica que los adultos migran a

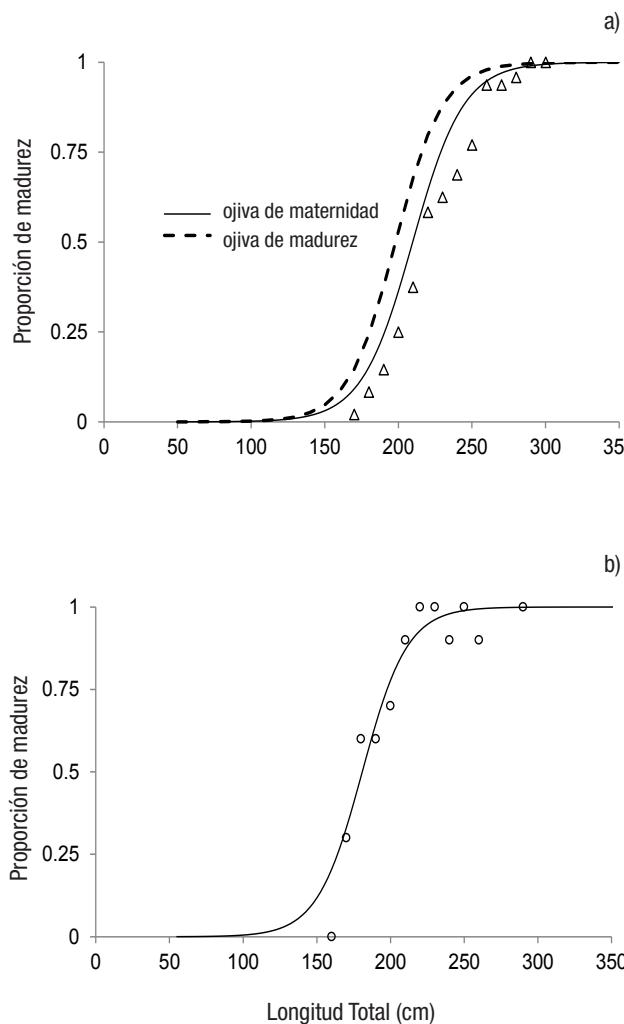
aguas oceánicas. En estas capturas los machos adultos fueron más numerosos que las hembras, con un pulso de abundancia de abril a junio.

Como en otras especies de tiburón distribuidas en la zona de estudio (Soriano *et al.*, 2006; Alejo-Plata *et al.*, 2016), los machos maduran a una LT menor que las hembras (181 cm frente a 198.5 cm), estos valores se encuentran dentro de los intervalos reportados para esta especie en otros estudios (machos: 140-198 cm LT; hembras: 169-250 cm LT, Tabla 1). Al respecto, White *et al.* (2008) remarcan que las diferencias en la LT₅₀ de *S. lewini* sugieren la necesidad de obtener datos regionales que permitan caracterizar los patrones reproductivos a lo largo de su amplia distribución.

Para diferentes zonas geográficas se ha documentado la preferencia de las hembras grandes de *S. lewini* por aguas oceánicas y pelágicas (Branstetter, 1987; Stevens & Lyle, 1989; Duncan & Holland, 2006). En la parte sur del golfo de Tehuantepec, donde la pesca se efectúa en aguas lejanas de la costa, Soriano *et al.* (2006) registraron, en las capturas de la pesca artesanal, la agregación de hembras grandes y en estados iniciales de preñez en los meses de mayo a julio. En contraste, en la costa de Oaxaca (región centro-oeste del golfo de Tehuantepec), se registraron hembras en avanzado estado de preñez durante la temporada de lluvias y fueron capturadas con redes de enmallé de la pesca demersal. Esto sugiere que migran a la costa para dar a luz, como se ha reportado en otros trabajos (Clarke, 1971; Duncan & Holland, 2006).

Tabla 1. Resumen de los estudios que describen algunos aspectos de la biología reproductiva de *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834).

Región	Talla de madurez (cm)		Periodo de gestación (meses)	Parto	Tamaño camada	Talla nacimiento (LT, cm)	Referencia
	Machos	Hembras					
Hawái				verano	15-31	40-50	Clarke (1971)
Sur de Mozambique	140-165	212		verano	30	50	Bass <i>et al.</i> (1975)
Noreste del golfo de México	180	250	12		>30	49	Branstetter (1987)
Noroeste de Taiwan	198	210	10	verano	12-38	>47	Chen <i>et al.</i> (1988)
Norte de Australia	140-160	200	9-10	verano	13-23	45-50	Stevens & Lyle (1989)
Senegal				verano	18-22	37-52	Capapé <i>et al.</i> (1998)
Norte de Brasil	150					40-50	Lessa <i>et al.</i> (1999)
Noroeste de Brasil	180-200	240	10	verano	2-21	>38	Hazin <i>et al.</i> (2001)
Golfo Dulce, Costa Rica				junio-agosto			Zanella & López-Garro (2015)
Indonesia	175.5	228.5		octubre-noviembre	14-41	40	White <i>et al.</i> (2008)
Golfo de California	170	207	11	junio	32	41-53	Torres <i>et al.</i> 2009
Pacífico central de México			10	mayo-julio		44.7(M) 47.8(H)	Anislado-Tolentino y Robinson-Mendoza (2001)
Golfo de Tehuantepec	154	169	12	lluvias	3-48	24-59	Soriano <i>et al.</i> (2006)
Golfo de Tehuantepec	178	220		julio-agosto	6-40	41-51	Bejarano <i>et al.</i> (2011)
Costa de Oaxaca, México	181	198.5	10-11	julio-septiembre	15-42	44-54	Presente estudio



Figuras 6a-b. Proporción de individuos maduros de *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) capturados por la pesca artesanal en la costa de Oaxaca (Méjico) durante el periodo de 2001 a 2007. a) Hembras; b) Machos.

Con respecto al periodo de gestación de *S. lewini*, la temporalidad de 10 a 11 meses coincide con otros registros hechos en el Pacífico mexicano, excepto con aquél reportado por Soriano *et al.* (2006) para el sur del golfo de Tehuantepec, el cual sugiere un periodo de gestación de 12 meses. Las especies de tiburón que se reproducen en aguas tropicales y subtropicales presentan un ciclo reproductivo estacional (Stevens & Lyle, 1989), lo cual se demuestra con nacimientos de *S. lewini* durante el verano en la costa de Oaxaca y en diferentes áreas de su distribución (Tabla 1).

La talla de nacimiento de *S. lewini* estimada en el presente estudio (44-54 cm LT) se encuentra en el intervalo reportado por otros autores (24-59 cm LT; Tabla 1), lo que sugiere que la talla de nacimiento de esta especie podría ser similar en toda el área de distribución. En Oaxaca, *S. lewini* nace durante la temporada de lluvias, cuando la temperatura superficial del mar es la más elevada del año y se encuentra una alta disponibilidad de alimento en el litoral oaxaqueño (Pennington *et al.*,

2006). Se conoce que los neonatos de tiburón tienen altas tasas de crecimiento (Corro-Espinosa *et al.*, 2011) debido al consumo elevado de alimento, lo cual indica que tienden a permanecer en áreas donde el alimento es abundante (Branstetter, 1990; Castro, 1993; Simpfendorfer & Milward, 1993). Además, de acuerdo con Yates *et al.* (2015), el nacimiento de tiburones en los meses más cálidos puede influir en la supervivencia y eficacia biológica; por ejemplo, se pueden beneficiar de una mayor asimilación de energía debido a su capacidad de retener el calor metabólico generado por la actividad continua de los músculos aerobios durante el nado, así como por el generado durante el proceso de la digestión y la asimilación (Bernal *et al.*, 2012).

En Oaxaca observamos que nacen igual número de hembras y machos, y que la proporción se mantiene en los JUA. Esto concuerda con lo reportado por Torres-Huerta *et al.* (2009) para la costa de Baja California, Anisaldo-Tolentino (2000) para la costa de Michoacán y Campuzano-Caballero (2002) en la Costa de Chiapas.

Con respecto al tamaño de la camada, observamos una correlación positiva entre el tamaño de ésta y la longitud de la madre; esto ha sido reportado en Taiwan (Chen *et al.*, 1998) e Indonesia (White *et al.*, 2008). La camada más numerosa registrada en este trabajo fue de 42 embriones; en la región sur del golfo de Tehuantepec, Soriano *et al.* (2006) reportan camadas de hasta 48 embriones. El tamaño de camadas pequeñas registradas en otras regiones (Tabla 1) sugiere que algunos embriones han sido abortados, esto por efecto de parto inducido por la captura y por los métodos de captura utilizados (Adams *et al.*, 2018).

Las observaciones en la costa de Oaxaca indican una menor captura de pesca sobre los adultos, de tal modo que las hembras con tallas menores a su LT_{50} representaron el 83.5% de todas las hembras capturadas, y los machos con tallas menores a LT_{50} alcanzaron el 56% del total de machos capturados. Las bajas capturas sobre los adultos de *S. lewini* en comparación con los juveniles se puede deber a que la pesca de tiburón se realiza en aguas cercanas a la costa, debido, entre otras causas, a los costos elevados de los viajes de pesca y a las condiciones oceanográficas durante la temporada de pesca de tiburón. Lo anterior ha sido observado en el golfo de California por Furlong-Estrada *et al.* (2015), quienes sugieren que la baja presión pesquera sobre los adultos de *S. lewini* ha actuado probablemente de manera inadvertida en favor de la estabilidad poblacional.

En las capturas de la zona de estudio se presentaron de manera simultánea hembras grávidas con embriones terminales, neonatos y JUA, además de una importante abundancia de juveniles durante todo el año, lo cual indica que las capturas se realizan en la zona de reproducción. Esta información, junto con los patrones de la presencia de *S. lewini*, sugieren que es probable que en la costa de Oaxaca se encuentre un área de nacimiento y crianza, debido a que se cumplen parcialmente los criterios propuestos por Heupel *et al.* (2007): a) los tiburones se encuentran con más frecuencia en esta área que en otras: la zona de estudio no cumple este criterio, pues en la parte sur del golfo de Tehuantepec Soriano *et al.* (2006) han reportado neonatos y juveniles de *S. lewini*, por lo cual su presencia no es exclusiva de la costa de Oaxaca; b) los tiburones tienen la tendencia de permanecer o regresar por extensos períodos al área de crianza: la zona de estudio lo cumple parcialmente, en las capturas se registraron neonatos y juveniles cercanos a la madurez, lo que indica que permanecen por varios años en la costa de Oaxaca, y c) el área es utilizada repetidamente a través de los

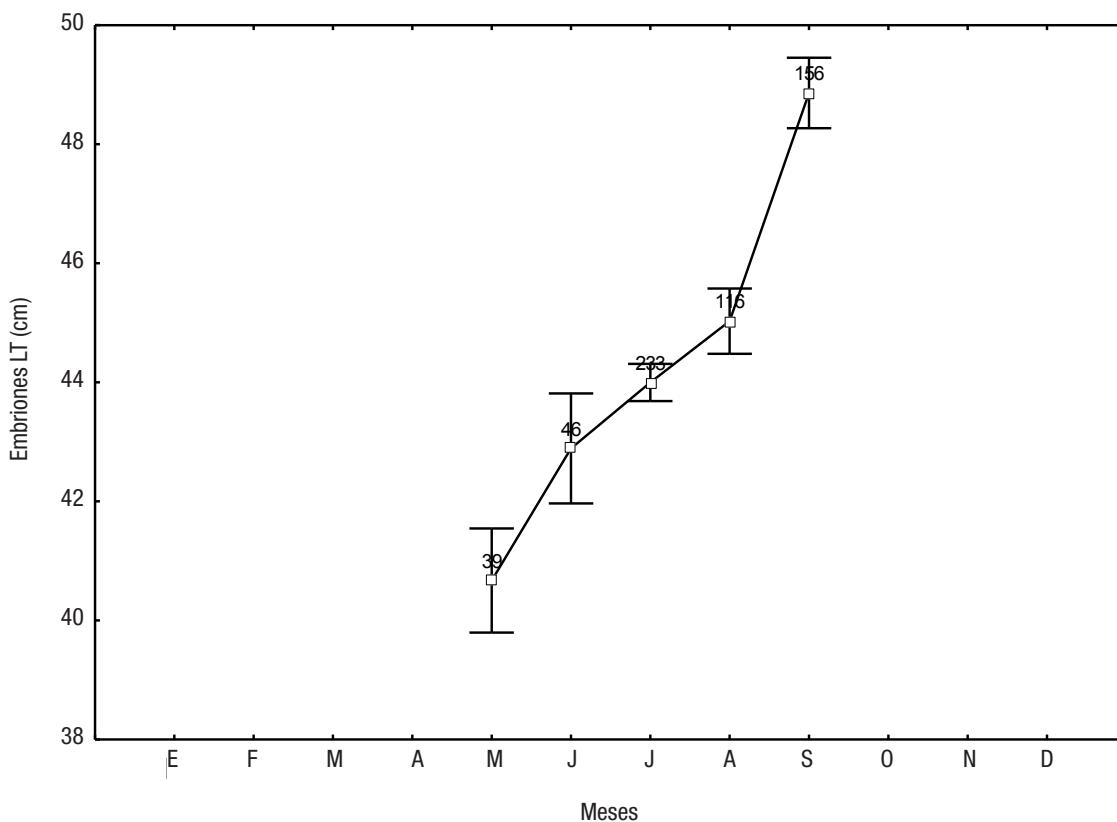


Figura 7. Longitud media total de embriones en el útero de cada hembra preñada de *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) capturadas por la pesca artesanal en la costa de Oaxaca (Méjico) entre 2001 y 2007. Sobre la barra se indica el número total de embriones.

años: se han registrado neonatos y juveniles del año en muestreos de por lo menos seis años, lo que sugiere que la costa de Oaxaca es usada por neonatos y juveniles del año repetidamente a través de los años. Asimismo, se ha reportado la presencia de neonatos, juveniles del año y juveniles de *Carcharhinus falciformis* en la costa de Oaxaca (Alejo-Plata *et al.*, 2007; Alejo-Plata *et al.*, 2016).

Para confirmar o no a la costa de Oaxaca como un área de crianza de *S. lewini*, es necesario realizar un estudio regional que incluya un programa de marcado y recaptura de neonatos y juveniles del año. Los resultados de este trabajo contribuyen al conocimiento del ciclo reproductivo de *S. lewini* e identifican a la costa de Oaxaca como un área importante para su reproducción en la costa sur del Pacífico mexicano, por lo tanto, aportan información para el manejo y conservación de esta especie.

AGRADECIMIENTOS

A los pescadores artesanales de Oaxaca, a Gabriela González y Samuel Ramos por su apoyo en el trabajo de campo. Agradecemos y apreciamos la revisión crítica de los árbitros anónimos. El trabajo fue financiado por el Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT (069-2002) y el Gobierno del estado de Oaxaca-CONAPESCA (2IR0502).

REFERENCIAS

- ADAMS, R. K., L. C. FETTERPLACEA, A. R. DAVISA, M. D. TAYLOR & N. A. KNOTT. 2018. Sharks, rays and abortion: The prevalence of capture-induced parturition in elasmobranchs. *Biological Conservation* 217: 1-27. DOI: [10.1016/j.biocon.2017.10.010](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.10.010)
- ALEJO-PLATA, M. C., M. A. AHUMADA-SEMPAOL, J. L. GÓMEZ-MÁRQUEZ & A. GONZÁLEZ-ACOSTA. 2016. Estructura poblacional y aspectos reproductivos del tiburón piloto *Carcharhinus falciformis* (Müller & Henle, 1839) Carcharhiniformes: Carcharhinidae) en la costa de Oaxaca, México. *Latin American Journal of Aquatic Research* 44 (3): 513-524.
- ALEJO-PLATA, C., J. L. GÓMEZ-MÁRQUEZ, S. RAMOS & E. HERRERA. 2007. Presencia de neonatos y juveniles del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) y del tiburón sedoso *Carcharhinus falciformis* (Müller & Henle, 1839) en la costa de Oaxaca, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 42 (3): 403-413. DOI: [10.4067/S0718-19572007000300020](https://doi.org/10.4067/S0718-19572007000300020)
- ALEJO-PLATA, M. C., S. RAMOS-CARRILLO & J. C. CRUZ-RUIZ. 2006a. La pesquería artesanal de tiburón en Salina Cruz, Oaxaca. *Ciencia y Mar* 30: 37-51.

- ALEJO-PLATA, C., G. CERDENARES & G. GONZÁLEZ-MEDINA. 2006. La pesca artesanal de tiburón en la Costa Chica de Oaxaca, México, 2000-2003. In: S. Salas, M. A. Cabrera, J. Ramos, D. Flores & J. Sánchez (eds). *Memorias Primera Conferencia de Pesquerías Costeras en América Latina y el Caribe. Evaluando, Manejando y Balanceando Acciones*. Mérida, Yucatán: COATFISH, pp. 22-38.
- ANISLADO-TOLENTINO, V. & C. ROBINSON-MENDOZA. 2001. Age and growth for the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini* (Griffith and Smith, 1834) along the central Pacific coast of Mexico. *Ciencias Marinas* 27 (4): 501-520. DOI: [10.7773/cm.v27i4.503](https://doi.org/10.7773/cm.v27i4.503)
- ANISLADO-TOLENTINO, V. 2000. Ecología pesquera del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) en el litoral del estado de Michoacán, México. Tesis de Maestría en Ciencias, (Biología de Sistemas y Recursos Acuáticos), Facultad de Ciencias, UNAM. CDMX, México, 142 p.
- BASS, A. J., J. D. AUBREY & N. KISTNASAMY. 1975. *Sharks of the east coast of southern Africa. III. The families Carcharhinidae (excluding Mustelus and Carcharhinus) and Sphyrnidae*. South African Association for Marine Biological Research. Oceanographical Research Institute. Investigational Report No. 38, 100 p.
- BEJARANO-ÁLVAREZ, M., F. GALVÁN-MAGAÑA & R. I. OCHOA-BÁEZ. 2011. Reproductive biology of the scalloped hammerhead shark *Sphyrna lewini* (Chondrichthyes: Sphyrnidae) off south-west Mexico. *Aqua, International Journal of Ichthyology* 17 (1): 11-22.
- BERNAL, D., J. K. CARLSON, K. J. GOLDMAN & C. G. LOWE. 2012. Energetics, metabolism, and endothermy in sharks and rays. In: Carrier, J. C., J. A. Musick & M. R. Heithaus (eds). *Biology of sharks and their relatives*. Boca Raton, CRC Press. pp. 211-238.
- BRANSTETTER, S. 1987. Age, growth and reproductive biology of the silky shark, *Carcharhinus falciformis*, and the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, from the northwestern Gulf of Mexico. *Environmental Biology of Fishes* 19 (3): 161-173. DOI: [10.1007/BF00005346](https://doi.org/10.1007/BF00005346)
- BRANSTETTER, S. 1990. Early life-history Implications of selected Carcharhinoid and Lamnid Sharks of the Northwest Atlantic. In: Pratt, H. L. Jr., S. H. Gruber & T. Taniuchi (eds). *Elasmobranchs as living resources: Advances in biology, ecology, systematic, and status of the fisheries*. NOAA Technical Report NMFS, pp. 17-28.
- CAMPUZO-CABALLERO, J. C. 2002. Biología y pesquería del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834), en Puerto Madero, Chiapas, Estados Unidos Mexicanos. Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM. CDMX, México, 196 p.
- CAPAPÉ, C., M. DIOP & M. N'DAO. 1998. Record of four pregnant females of the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini* (Sphyrnidae) in Senegalese waters. *Cybium* 22 (1): 89-93.
- CASTILLO-OLGUÍN, E., M. URIBE-ALCOCER & P. DÍAZ-JAIMES. 2012. Assessment of the population genetic structure of *Sphyrna lewini* to identify conservation units in the Mexican Pacific. *Ciencias Marinas* 38 (4): 635-652. DOI: [10.7773/cm.v38i4.2110](https://doi.org/10.7773/cm.v38i4.2110)
- CASTRO, J. I. 1993. The shark nursery of Bull Bay, South Carolina, with a review of the shark nurseries of the southeastern coast of the United States. *Environmental Biology of Fishes* 38 (1): 37-48. DOI: [10.1007/BF00842902](https://doi.org/10.1007/BF00842902)
- CHEN, G. C., T. LIU & S. JOUNG. 1988. Notes on reproduction in the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, in northeastern Taiwan waters. *U.S. Fishery Bulletin* 86: 389-393.
- CLARKE, T. A. 1971. The ecology of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*, in Hawaii. *Pacific Science* 25 (2): 133-144. DOI: [10.1257/4191](https://doi.org/10.1257/4191)
- CLARK, E. & K. VON SCHMIDT. 1965. Shark of the central Gulf of coast Florida. *Bulletin of Marine Science* 15 (1): 13-83.
- COMPAGNO, L. J. V. 1984. FAO Species Catalogue. Vol. 4, *Sharks of the World. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 2. Carcharhiniformes*. FAO Fisheries Synopsis, Roma, 125 p.
- CORRO-ESPINOZA, D., J. F. MÁRQUEZ-FARIAS & A. MUHLIA-MELO. 2011. Size at maturity of the Pacific sharpnose shark *Rhizoprionodon longurio* in the Gulf of California, Mexico. *Ciencias Marinas* 37 (2): 201-214.
- DOF (DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN). 2004. ACUERDO mediante el cual se aprueba la actualización de la Carta Nacional Pesquera y su anexo. Segunda sección. Lunes 15 de marzo de 2004. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, 126 p.
- DUNCAN, K. M. & K. N. HOLLAND. 2006. Habitat use, growth rates and dispersal patterns of juvenile scalloped hammerhead sharks (*Sphyrna lewini*) in a nursery habitat. *Marine Ecology Progress Series* 312: 211-221.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 1999. Informe del grupo técnico de trabajo de la FAO sobre la conservación y ordenación del tiburón mexicano. Tokio, Japón, 23-27 de abril de 1998. *FAO Informe de Pesca*. No. 583. Roma, FAO, 30 p.
- FURLONG-ESTRADA, E., J. TÓVAR-ÁVILA, J. C. PÉREZ-JIMÉNEZ & E. RÍOS-JARA. 2015. Resilience of *Sphyrna lewini*, *Rhizoprionodon longurio*, and *Carcharhinus falciformis* at the entrance to the Gulf of California after three decades of exploitation. *Ciencias Marinas* 41 (1): 49-63. DOI: [10.7773/cm.v41i1.2442](https://doi.org/10.7773/cm.v41i1.2442)
- HADDON, M. 2001. *Modeling and quantitative methods in fisheries*. Chapman and Hall, Florida, 402 p.
- HAZIN, F., A. FISHER & M. BROADHURST. 2001. Aspects of the reproductive biology of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*, of Northeastern Brazil. *Environmental Biology of Fishes* 61: 151-159.
- HEUPEL, M. R., J. K. CARLSON & C. A. SIMPFENDORFER. 2007. Shark nursery areas: concepts, definition, characterization and assumptions. *Marine Ecology Progress Series* 337: 287-297.
- KLIMLEY, A. P. 1987. The determinants of sexual segregation in the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. *Environmental Biology of Fishes* 18: 27-40.
- KWANG-MING LIU, CHE-TSUNG CHEN, TAI-HSIANG LIAO AND SHOU-JENG JOUNG. 1999. Age, growth, and reproduction of the pelagic thresher shark *Alopias pelagicus* in the northwestern Pacific. *Copeia* 1999 (1): 68-74. DOI: [10.2307/1447386](https://doi.org/10.2307/1447386)
- LAST, P. R. & J. D. STEVENS. 1994. *Sharks and Rays of Australia*. CSIRO, Australia, 523 p.

- LAVÍN, M. F., J. M. ROBLES, M. L. ARGOTE, E. D. BARTON, R. SMITH, J. BROWN, M. KOSRO, A. TRASVÍNA, H. S. VÉLEZ & J. GARCÍA. 1992. Física del golfo de Tehuantepec. *Ciencia y Desarrollo* 18 (103): 97-106.
- LESSA, R., F. SANTANA, R. MENNI & Z. ALMEIDA. 1999. Population structure and reproductive biology of the small tail shark (*Carcharhinus porosus*) off Maranhao (Brazil). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 50 (5): 383-388. DOI: [10.1071/MF98127](https://doi.org/10.1071/MF98127)
- LÓPEZ-MARTÍNEZ, J., E. HERRERA-VALDIVIA, J. RODRÍGUEZ-ROMERO & S. HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ. 2010. Peces de la fauna de acompañamiento en la pesca industrial de camarón en el Golfo de California, México. *Revista de Biología Tropical* 58 (3): 925-942. DOI: [10.15517/rbt.v58i2.5255](https://doi.org/10.15517/rbt.v58i2.5255)
- MERSON, R. R. & H. L. JR. PRATT. 2001. Distribution, movements and growth of young sandbar sharks, *Carcherhinus plumbeus*, in the nursery grounds of Delaware Bay. *Environmental Biology of Fishes* 61 (1): 13-24.
- MOLLET, F. H., J. CLIFF, H. L. JR. PRATT & D. J. STEVENS. 2000. Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of lamnoids. *Fisheries Bulletin* 98: 299-318.
- PENNINGTON, J. T., K. L. MAHONEY, V. S. KUWAHARA, D. D. KOLBER, R. CALIENES & F. P. CHAVEZ. 2006. Primary production in the eastern tropical Pacific: a review. *Progress in Oceanography* 69: 285-317. DOI: [10.1016/j.pocean.2006.03.012](https://doi.org/10.1016/j.pocean.2006.03.012)
- PRATT, H. L. JR. & J. G. CASEY. 1990. Shark reproductive strategies as a limiting factor in directed fisheries, with a review of Holden's method of estimating growth parameters. NOAA Technical Report. National Marine Fisheries Service 90: 97-109.
- PRATT, H. L. JR. 1979. Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. *Fisheries Bulletin* 77: 445-469.
- REYES, S. & A. MEJÍA-TREJO. 1991. Tropical perturbations in the eastern Pacific and the precipitation field over northwestern Mexico in relation to ENSO phenomenon. *International Journal of Climatology* 11: 515-528. DOI: [10.1002/joc.3370110505](https://doi.org/10.1002/joc.3370110505)
- ROMERO-CENTENO, R., J. ZAVALA-HIDALGO, A. GALLEGO & J. O'BRIEN. 2003. Isthmus of Tehuantepec Wind Climatology and ENSO Signal. *Journal of Climate* 16: 2628-2639.
- SAUCEDO-BARRÓN, J. C. 1983. El tiburón: contribución al estudio de la pesquería de la zona sur de Sinaloa, México. *Ciencias del Mar* 2: 14-29.
- SIMPENDORFER, C. A. & N. E. MILWARD. 1993. Utilization of a tropical bay as a nursery area by sharks of the families Carcharhinidae and Sphyrnidae. *Environmental Biology of Fishes* 37: 337-345.
- SIMPENDORFER, C. A. & M. R. HEUPEL. 2004. Assessing habitat use and movement. In: Carrier J. C., J. A. Musick & M. R. Heithaus (eds.). *Biology of sharks and their relatives*. CRC Press, Boca Raton, pp. 553-572.
- SORIANO, V. S., D. S. ACAL, L. CASTILLO-GÉNIZ, N. G. VÁZQUEZ & E. S. SANTIAGO. 2006. Tiburón del Golfo de Tehuantepec. In: Arreguín S. F., M. J. Meléndez, M. I. Gómez-Humaran, S. R. Solana & D. C. Rangel (eds.). *Sustentabilidad y pesca responsable en México: evaluación y manejo* 1990-2000. Instituto Nacional de la Pesca, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, pp. 325-364.
- SOTO-LÓPEZ, K., R. I. OCIOA-BÁEZ, J. TOVAR-ÁVILA & F. GALVÁN-MAGAÑA. 2018. Reproductive biology of the brown smooth-hound shark, *Mustelus henlei* (Chondrichthyes: Triakidae), off northwestern Mexico based on macroscopic and histological analyses. *Ciencias Marinas* 44 (2): 125-139. DOI: [10.7773/cm.v44i2.2805](https://doi.org/10.7773/cm.v44i2.2805)
- STEVENS, J. D. & J. M. LYLE. 1989. Biology of three hammerhead sharks (*Eusphyra blochii*, *Sphyra mokarran* and *Sphyra lewini*) from northern Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 40 (2): 129-146. DOI: [10.1071/MF9890129](https://doi.org/10.1071/MF9890129)
- TORRES-HUERTA, A. M., C. VILLAVICENCIO-GARAYZAR & D. CORRO-ESPINOSA. 2009. Biología reproductiva de la cornuda común *Sphyra lewini* Griffith & Smith (Sphyrnidae) en el Golfo de California. *Hidrobiológica* 18 (3): 227-237.
- TRASVÍNA, A., E. D. BARTON, J. BROWN, H. S. VELEZ, P. M. KOSRO & R. L. SMITH. 1995. Offshore wind forcing in the Gulf of Tehuantepec, Mexico: The asymmetric circulation. *Journal of Geophysical Research* 100 (C10): 20649-20663. DOI: [10.1029/95JC01283](https://doi.org/10.1029/95JC01283)
- WALKER, T. I. 2005. Reproduction in fisheries science. In: W.C. Hamlett (ed.). *Reproductive biology and phylogeny of Chondrichthyes: sharks, batoids and chimaeras*. CRC Press, pp. 81-128.
- WANG, C. & D. B. ENFIELD. 2001. The tropical Western Hemisphere warm pool. *Geophysical Research Letters* 28: 1635-1638.
- WATSON, J., T. ESSINGTON, C. LENNERT-CODY & M. HALL. 2009. Trade-offs in the design of fishery closures: management of silky shark by catch in the Eastern Pacific Ocean tuna fishery. *Conservation Biology* 23 (3): 626-635. DOI: [10.1111/j.1523-1739.2008.01121.x](https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01121.x)
- WHITE, W.T., C. BARTON & I.C. POTTER. 2008. Catch composition and reproductive biology of *Sphyra lewini* (Griffith & Smith) (Carcharhiniformes, Sphyrnidae) in Indonesian waters. *Journal of Fish Biology* 72 (7): 1675-1689. DOI: [10.1111/j.1095-8649.2008.01843.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.01843.x)
- YATES, P. M., M. R. HEUPEL, A.J. TOWIN & C. A. SIMPFENDORFER. 2015. Spatio-temporal occurrence patterns of young sharks in Tropical Coastal waters. *Estuaries and Coasts* 38 (6): 2019-2030. DOI: [10.1007/s12237-015-9952-4](https://doi.org/10.1007/s12237-015-9952-4)
- ZANELLA, I. & A. LÓPEZ-GARRO. 2015. Abundancia, reproducción y tallas del tiburón martillo *Sphyra lewini* (Carcharhiniformes, Sphyrnidae) en la pesca artesanal de Golfo Dulce, Pacífico de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 63 (1): 307-317.
- ZAR, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey, 663 p.

Macrofauna del río Meric (Tracia turca): Composición de la comunidad en relación a la calidad del agua

Fauna macrobentónica del río Meric (Tracia turca): composición de la comunidad en relación a la calidad del agua

Menekse Tas-Divrik^{1*}  and Timur Kirgiz² 

Recibido: 12 de septiembre de 2017.

Aceptado: 13 de noviembre de 2018.

Publicado: 10 de diciembre de 2018.

ABSTRACT

Background: Benthic macroinvertebrates are commonly used as indicators of the biological condition of waterbodies. Both the benthic macroinvertebrates and the physicochemical properties of the water provide important information about the pollution of a water environment. **Goals:** To investigate the relationships between assemblage composition of Oligochaeta (Annelida), Chironomidae (Diptera), and other macroinvertebrates with physical and chemical water variables in the Meric River, Turkey. **Methods:** This study was carried out by taking water and benthic samples at 8 stations at monthly intervals in order to determine what macrobenthic fauna exist in the Meric River and what environmental properties affect their distribution.

Results: A total of 39 taxa were found and we determined that there is an average of 851 individuals per m². Also, this study established the first records for *Brachiura sowerbyii* (Oligochaeta) and *Pottashia alternis* (Chironomidae) in the Turkish Thrace region. According to Shannon-Wiener index, while it was determined that Meric River has the highest diversity values with H' = 0.845 at the station 4, the river has the poorest diversity with H' = 0.477 at the station 2. Also, we examined similarities of distribution of Oligochaeta taxa by station and month using the Bray-Curtis index. Accordingly, while stations 6 and 8 were determined to be the most similar to each other, stations 2 and 5 were the least similar. The relationships between Oligochaeta taxa and physical and chemical parameters of water were evaluated using the Spearman Correlation index. As a result, we found that water temperature, pH, electrical conductivity, hydrogen sulfide, calcium, magnesium, phosphate, chlorine, salinity, dissolved oxygen and biological oxygen have positive correlations with some species of Oligochaeta, while nitrate and nitrite have negative correlations with some species of Oligochaeta.

Conclusions: We made a number of suggestions for sustainable usage of this river.

Keywords: Chironomidae, fauna, macrobenthic, Meric River, Oligochaeta

¹ Sarkışla Asık Veysel Vocational School, Cumhuriyet University. Sarkışla, 58400, Turkey.

² Department of Biology, Faculty of Science, Trakya University. Edirne, 22030, Turkey

*Author for correspondence:
menekse.tas@cumhuriyet.edu.tr

To cite as:

Tas-Divrik M. and T. Kirgiz. 2018. Macrofauna del río Meric (Tracia turca): Composición de la comunidad en relación a la calidad del agua. *Hidrobiológica* 28 (3): 277-285.

DOI:

RESUMEN

Antecedentes: Los macroinvertebrados bentónicos se usan comúnmente como indicadores de la condición biológica de los cuerpos de agua. Estos organismos al igual que las propiedades fisicoquímicas del agua, proporcionan información importante sobre la contaminación de un ambiente acuático. **Objetivos:** Investigar las relaciones entre la composición del ensamblaje de Oligochaeta (Annelida), Chironomidae (Diptera) y otros macroinvertebrados con las variables físicas y químicas del agua en el río Meric, Turquía. **Métodos:** Se estudiaron muestras de agua y de bentos, tomadas en 8 estaciones en intervalos mensuales para determinar la fauna macrobentónica del río Meric y las propiedades ambientales que afectan su distribución. **Resultados:** Se encontraron un total de 39 taxa, con un promedio de 851 individuos por m². Además las especies: *Brachiura sowerbyii* (Oligochaeta) y *Pottashia alternis* (Chironomidae), constituyen los primeros registros en la región de la Tracia turca. Según el índice de Shannon-Wiener, se determinó que el río Meric tiene los valores más altos de diversidad (H' = 0.845) en la estación 4, y los más bajos (H' = 0.477), en la estación 2. Además, se examinaron las similitudes de distribución de los taxones de Oligochaeta para las estaciones y los meses utilizando el índice de Bray-Curtis. Las estaciones 6 y 8 se determinaron como las más similares entre sí, por el contrario las estaciones 2 y 5 como las más diferentes. Las relaciones entre los taxones de Oligochaeta y los parámetros físicos y químicos del agua se evaluaron utilizando el índice de correlación de Spearman. Como resultado, se observó que la temperatura del agua, el pH, la conductividad eléctrica, el sulfuro de hidrógeno, el calcio, el magnesio, el fosfato, el cloro, la salinidad, el oxígeno disuelto y el oxígeno biológico tienen correlaciones positivas con algunas especies de Oligochaeta, mientras que el nitrato y el nitrito tienen correlaciones negativas con los organismos de ese grupo. **Conclusiones:** Se hacen sugerencias para el uso sustentable del río.

Palabras clave: Chironomidae, fauna, macrobentónico, Oligochaeta, río Meric

INTRODUCTION

The Maritza/Evros/Meric river basin, which includes the Arda, Tunca, and Ergene tributaries, is one of the major river systems located in the eastern Balkans, with a total length of 550 km and total catchment area of 53000 km². About 66% belongs to Bulgaria, 28% to Turkey, and 6% to Greece. The Meric is an international river that runs through an area of approximately 321 km in Bulgarian territory and flows into Aegean Sea. The Basin includes its main tributaries, i.e., the Arda and Tunca Rivers that mainly flow in Bulgaria and the Ergene River that flows entirely in Turkish territory. The basin provides suitable conditions for intensive irrigation and raising livestock (UNECE, 2009).

The Meric River forms the border between Greece and Turkey. Turkish authorities consider it to be an “international river” between Turkey and Greece and a “transboundary river” where it crosses the border between Bulgaria and Turkey. The water is used mostly for irrigation. It is also used at hydroelectric power plants. In addition, the Delta region provides good fishing for Turkey and Greece. The Delta is a very important stopover for birds that winter there. The Meric Delta is listed as a Class A International Wetlands (TCSV, 1989).

Many studies of the Bulgarian portion of river have been undertaken by Russev (1970), Russev *et al.* (1981), Detcheva (1981), Detcheva (1982), Russev and Janeva (1983), Kovachev (1985), Georgiev (2006), Stefanova *et al.* (2008), Rozdina *et al.* (2008), the oligochaeta studies by Dimitrov (1966), Uzunov (1976), Uzunov (1980), Uzunov (1981), Uzunov and Kovachev (1981), Uzunov *et al.* (1981), Uzunov and Kapustina (1993). Up to now, Özkan (1998) and Kalebaşı (1994) have studied the Turkish portion of the Meric River. There has been no study on macrobenthic fauna in the Turkish part of Meric River. To date, there have been no studies related to macrobenthic fauna and environmental parameters.

The objective of this study is to investigate the relationships between the physicochemical parameters and macrobenthic invertebrates in the Meric River. In addition, as part of the conclusions we offer a number of suggestions for the sustainable use of the river.

MATERIALS AND METHODS

The Meric River is the most important aquatic ecosystem in the Thrace Region of Turkey and the longest river in the Balkans. It originates in Bulgaria, delimits a small segment of border between Greece and Bulgaria, and then establishes the entire Greek-Turkish border. After crossing the Greek - Turkish border, one of its main tributaries, the Arda, flows into the Meric, and after crossing the Bulgarian-Turkish border, the Tunca, the other main tributary, joins the Meric near the Turkish city of Edirne. The river is between 150 and 300 meters wide (Emir, 1990). The transboundary basin of the Meric is shared by three European countries: Bulgaria, Greece, and Turkey. Bulgaria is upstream; Turkey and Greece are downstream (Fig. 1).

We conducted this study from January 2011 to December 2011 at eight stations. Samples were taken monthly. Some properties of selected stations on the river: Station 1: This station is located upstream from industrial facilities located in Kapıkule. The substrates are composed of mud. The river's width at this station is about 160 meters. Station 2: This station is about 5 km away from the station 1. The substrates are composed of sandy-mud. The river's width at this station is about 175 meters. Station 3: The Arda Stream joints the Meric. The substrates are

composed of sand. The width at this station is about 180 meters. Station 4: At this station, the Tunca Stream joints the Meric. The substrates are composed of clay-detritus. The width at this station is about 200 meters. Station 5: Tatarköy village. There are many rice-growing areas around this location. This station is used for irrigation. The substrates are composed of stones. The river's width at this station is about 220 meters. Station 6: Saçılımüselli village. This station is located 23 km from station 5. The substrates are composed of sand. The width at this station is about 200 meters. Station 7: Like station 5, this station has many rice fields. This station is located before the junction with the river Ergene. The substrates are composed of sand. The river's width at this station is about 210 meters. Station 8: This station is located after the point of union with the river Ergene. The substrates are composed of clay and stone. The width of this station is about 250 meters.

At each site, water samples were taken periodically, at which time samples of benthic macroinvertebrates were taken. Benthic macroinvertebrate samples were taken at a depth of 1.5 meters.

Macrobenthic samples were taken from each station twice by using Ekman Birge grab (15 x 15 cm) and washed through on sieve series (1.19 mm, 0.595 mm, 0.297 mm mesh size). All collected samples were immediately fixed in 4% formaldehyde in the field and then transferred to 70% ethanol. In the laboratory, collected benthic macroinvertebrates were sorted and counted by using a stereomicroscope and then identified to the lowest possible taxon (species, genus, or families) by using a binocular microscope.

Identification of the Oligochaeta species was made by using keys in Brinkhurst and Jamieson (1971), Brinkhurst and Wetzel (1984), Kathman and Brinkhurst (1998), Milligan (1997), Timm (1999), and Wetzel *et al.* (2000). Chironomidae larvae were identified by using the keys in Saether (1980), Cranston (1982), Pinder and Reiss (1983).

At each station, the Meric River's water temperature (using ordinary thermometer), electrical conductivity (using a conductivity meter), and pH (using a pH meter) were measured when benthic samples were taken. The latter were taken by a Ruttner sampler and carried to the laboratory in 2 L bottles with dissolved oxygen (using the classical Winkler method). BOD, SO₄²⁻, PO₄²⁻, NO³⁻N, NO²⁻N, Cl, Mg, Ca, total hardness, salinity, H₂S, and suspended solid material were analyzed by classical titrimetric and spectrophotometric methods. The water-quality level was determined according to official standards set by Turkey's National Water Quality Standards for inland waters (SKKY, 2004). The Shannon-Wiener index was used to evaluate the species diversity of the river. The similarities between the stations and months were evaluated by the Bray-Curtis similarity index (Krebs, 1999). The relationships between Oligochaeta taxa and physicochemical parameters of the water were evaluated by using the Spearman Correlation index (Krebs, 1999).

RESULTS

A total of 39 taxa consisting of an average of 851 individuals/m² were collected at the Meric River stations during the study period. Samples were grouped as “Oligochaeta”, “Chironomidae” and “other benthic macroinvertebrates”. We found that 13 taxa belonging to Oligochaeta consist of 686 individuals/m², 17 taxa belonging to Chironomidae consist of 145 individuals/m², and 9 taxa belonging to other benthic macroinvertebrates consist of 20 individuals/m². *Brachiura sowerbyi* (Beddard, 1982) that belongs to Oligochaeta and *Pottashia alternis* (Sa-

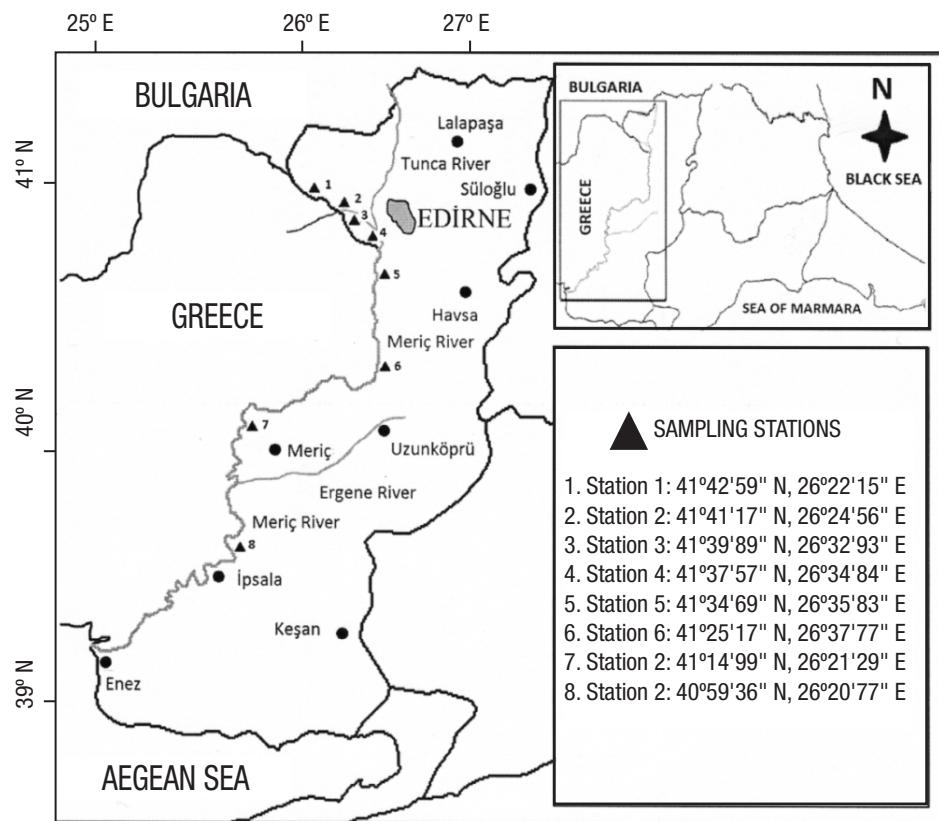


Figure 1. Map of the Meric River (Turkish Thrace) and sampling stations.

hin, 1987) that belongs to Chironomidae were determined as new records for Turkish fauna. With regard to the rational distribution of these groups, Oligochaeta were the predominant group with 81%, followed by Chironomidae larvae with 17%, and other benthic macroinvertebrates 2% (Table 1).

The most abundant taxa on average was *Limnodrilus hoffmeisteri* (Claparéde, 1862), comprising 69.24%, while the least abundant taxa on average were *Limnodrilus profundicola* (Verrill, 1871), *Nais brethescheri*, (Michaelsen, 1899), *Aulophorus furcatus* (Müller, 1774), *Lumbirculus* sp., and Enchytraeidae 0.14%. In addition, *L. hoffmeisteri* is the most abundant species at station 5. We found that the abundance of Oligochaeta was very high at station 5 (total number of individuals was 1941 per m²), while station 2 had the least (total number of individuals was 135 per m²) (Table 1).

Oligochaeta were found to have the highest number in May. In February and October none were found. The number of taxa belonging to Oligochaeta was the highest in June (9 taxa) (Table 2). Oligochaetes were found to have the highest number of taxa at station 4 (7 taxa), while the least taxa were found at station 2 (3 taxa) (Table 1).

Chironomidae had 17 taxa and 17 % abundance. *Chironomus Camptochironomus tentans* (Fabricius, 1805) was found to have the highest abundance (40%), while *P. (Holotanypus)* sp., *Rheocricotopus fuscipes* (Kieffer, 1909), *Stictochironomus* sp., *Pentapedilum excetum* (Kieffer, 1915), *Paratendipes albimanus* (Meigen, 1818), *Einfeldia pugana* (Meigen, 1838), *Pothastia alternis* (Sahin, 1987), and *Rheo-*

tanytarsus sp., were found to have the lowest abundance (0.68%). Chironomids were found to have the highest number of taxa at station 4 (12 taxa), followed by station 7 (9 taxa), and station 1 (8 taxa) respectively. *C. tentans*, *Chironomus anthracinus* (Zetterstedt, 1860) and *Cryptochironomus defectus* (Kieffer, 1913) were the most abundant and frequently recorded on sediments. Chironomidae was found to have the highest number in April. In January and February, none were found (Table 2). The number of taxa belonging to Chironomidae was the highest in May (11 taxa) (Table 2).

Other benthic macroinvertebrates had 9 taxa and 2% abundance. Odonata belonging to this group was found to have the highest abundance (30%), while Diptera (Chironomidae larvae excepted), Bivalvia, Coleoptera larvae, Trichoptera, Hemiptera, and Isopoda were found to have the lowest abundance (5%). Other benthic macroinvertebrates were found to have the highest number at stations 4 and 5 (total number of individuals 45 per m²), following by station 1 (29 per m²), and station 7 (15 per m²). None were found at station 6 (Table 1). Other benthic macroinvertebrates were found to have the highest number in April (483 per m²), following by June (433 per m²), and July (308 per m²), respectively. In January and February, none were found. The number of taxa belonging to other benthic macroinvertebrates was highest in May (6 taxa) (Table 2).

According to the Shannon-Weiner index, the Meric River had H' = 0.69 richness on average and station 4 was found to have the highest diversity H' = 0.84, while station 2 had the lowest H' = 0.47.

Table 1. List of taxa and number of individuals (per square meter) of benthic macroinvertebrates that were recorded at stations along the Meric River (Turkish Thrace). Ave. = Average; Ab. = Abundance; Tot.Ab.= Total abundance.

Station/Benthic macroinvertebrates	1	2	3	4	5	6	7	8	Ave.	Ab.	Tot.Ab.
Oligochaeta											
<i>Tubifex tubifex</i> (Müller, 1774)	0	9	11	13	402	4	20	15	59	8.60	6.93
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Claparède, 1862)	819	124	176	691	976	346	257	413	475	69.24	55.81
<i>L. dekemianus</i> (Claparède, 1862)	44	2	2	54	0	0	0	18	15	2.19	1.76
<i>L. profundicola</i> (Verrill, 1871)	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0.14	0.11
<i>Potamothrix hammoniensis</i> (Michaelsen, 1901)	11	0	2	40	239	6	2	29	41	5.98	4.81
<i>Nais bretscheri</i> (Michaelsen, 1899)	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0.14	0.11
<i>N. elinguis</i> (Müller, 1773)	0	0	15	179	0	24	200	0	52	7.58	6.11
<i>Aulophorus furcatus</i> (Müller, 1774)	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0.14	0.11
<i>Dero digitata</i> (Müller, 1773)	0	0	0	0	259	0	0	4	32	4.67	3.76
<i>D. obtusa</i> (D'Ukem, 1855)	0	0	0	0	26	0	0	0	3	0.44	0.35
<i>Ophidonaia serpentina</i> (Müller, 1773)	0	0	0	0	39	0	0	0	4	0.60	0.47
<i>Lumbriculus</i> sp.	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0.14	0.11
Enchytraeidae	2	0	0	0	0	0	0	4	1	0.14	0.11
Total Oligochaeta	878	135	206	981	1941	380	481	483	686	100	81
Number of taxa	5	3	5	7	6	4	5	6			
Chironomidae											
<i>Tanypus punctupennis</i> (Meigen, 1818)	0	0	2	2	50	3	0	0	7	4.82	0.82
<i>Practidius</i> (<i>Holotanypus</i>) sp.	0	0	0	3	8	0	0	0	1	0.68	0.11
<i>Cricotopus</i> (<i>C.</i>) <i>bicinctus</i> (Meigen, 1818)	2	0	0	9	0	0	5	0	2	1.40	0.23
<i>Rheocricotopus fuscipes</i> (Kieffer, 1909)	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0.68	0.11
<i>Chironomus anthracinus</i> (Zetterstedt, 1860)	2	0	11	11	48	7	4	0	10	6.90	1.17
<i>C. (C.) tentans</i> (Fabricius, 1805)	3	1	11	4	365	57	0	28	58	40	6.81
<i>C. plumosus</i> (Linnaeus, 1758)	2	0	0	5	28	6	0	0	5	3.45	0.58
<i>Stictochironomus</i> sp.	0	0	0	2	0	0	5	0	1	0.68	0.11
<i>Polypedilum aberrans</i> (Chernovskij, 1949)	26	0	27	153	116	16	18	0	44	30.34	5.17
<i>P. exsectum</i> (Kieffer, 1915)	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0.68	0.11
<i>Paratendipes albimanus</i> (Meigen, 1818)	0	0	0	0	0	0	4	0	1	0.68	0.11
<i>Cryptochironomus defectus</i> (Kieffer, 1913)	12	2	8	18	0	0	2	0	5	3.45	0.60
<i>Einfeldia pagana</i> (Meigen, 1838)	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0.68	0.11
<i>Pottashia alternis</i> (Sahin, 1987)	0	0	0	0	0	2	2	0	1	0.68	0.11
<i>Tanytarsus gregarius</i> (Kieffer, 1909)	3	0	0	24	5	0	2	2	4	2.8	0.47
<i>Virgotanytarsus arduensis</i> (Kieffer, 1909)	0	0	0	22	0	0	0	0	2	1.40	0.23
<i>Rheotanytarsus</i> sp.	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0.68	0.11
Total Chironomidae	52	3	59	255	620	91	44	33	145	100	17
Number of taxa	8	2	5	12	7	6	9	3			
Other benthic macroinvertebrates											
Diptera	0	0	2	2	2	0	0	0	1	5	0.1
Gastropoda	0	0	0	0	33	0	0	7	5	25	0.5
Bivalvia	0	0	0	0	0	0	9	0	1	5	0.1
Ephemeroptera	4	2	0	15	0	0	0	0	3	15	0.3
Odonata	18	2	2	19	6	0	2	4	6	30	0.7
Coleoptera (larvae)	2	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0.1
Trichoptera	5	0	0	2	2	0	0	0	1	5	0.1
Hemiptera	0	0	0	7	2	0	0	0	1	5	0.1
Isopoda	0	0	0	0	0	0	4	0	1	5	0.1
Total other benthic macroinvertebrates	29	4	4	45	45	0	15	11	20	100	2
Number of taxa	4	2	2	5	5	0	2	2			

The results of Bray-Curtis index indicated that stations 6 and 8, stations 1 and 4, and stations 2 and 3 are the most similar to each other (82.50%, 80.25%, and 79.17% similarities, respectively). Stations 2 and 5, stations 5 and 7, stations 1 and 2 were determined to be the least similar (12.81%, 23.87%, 24.87% similarities, respectively). The Bray Curtis Similarity index indicated that September and July, July and November, September and November are the most similar to each other (92.15%, 89.56%, 85.79% similarities, respectively). February and April, February and June were determined to be the least similar (0.07%, 0.15% similarities, respectively) (Figs 2a-b).

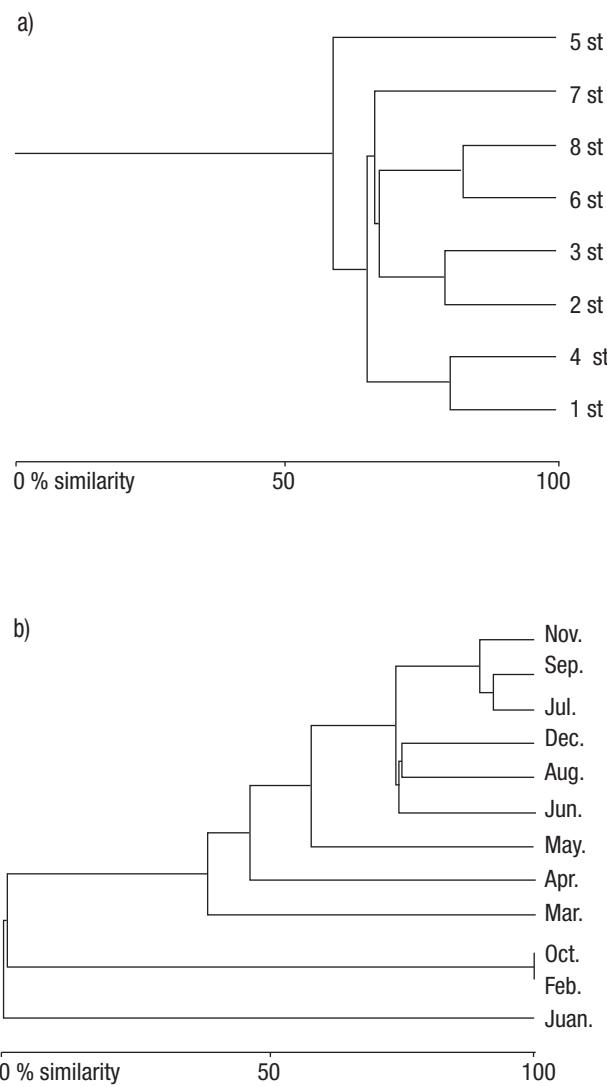
The average data on physicochemical parameters at each station are shown in Table 3. The lowest electrical conductivity was 214 $\mu\text{s}/\text{cm}$ (at station 8), while the highest was 1197 $\mu\text{s}/\text{cm}$ (station 8). The average value measured was 502 $\mu\text{s}/\text{cm}$. The lowest pH measured was 7.50 (station 8), while the highest was 10.03 (station 1). The average value was 8.42. The lowest dissolved oxygen was 2.28 mg/L (station 2), while the highest was 8.94 (station 7). The average value of dissolved oxygen was 5.53 mg/L. The values of biological oxygen demand ranged between 6.75-78.7 mg/L. The average value of biological oxygen demand was 37.32 mg/L. The lowest sulphate registered was 0.641 mg/L (station 4), while the highest was 4.250 mg/L (station 8). The average value of sulphate was 1.841 mg/L. The lowest phosphate value was 0 mg/L (stations 3, 4, 6, and 7), while the highest was 0.273 mg/L (station 5). The average phosphate value was 0.068 mg/L. The nitrite values ranged between 0-0.641 mg/L. The average value of nitrite was 0.034 mg/L. The nitrate values ranged between 0-33.750 mg/L. The average nitrate value 5.846 mg/L. The lowest chloride was 3.99 mg/L (station 1), while the highest was 179.94 mg/L (station 8). The average chloride value was 34.99 mg/L. The lowest magnesium value was 0.96 mg/L (station 4), while the highest was 59.56 mg/L (station 6). The average magnesium value was 16.71 mg/L. The lowest calcium was 24.04 mg/L (station 5), while the highest was 90.58 mg/L (station 8). The average calcium value was 54.75 mg/L. The lowest value of total hardness was 3.2 FS° (station 4), while the highest was 41.2 (station 6). The average total hardness was 17.3 FS°. The lowest salinity was 0.02‰ (station 4), while the highest was 0.23 (station 8). The average value was 0.068‰. Hydrogen sulfide values ranged between 0-3.195 mg/L. The average value of hydrogen sulfide was 0.110 mg/L. Suspend solid material registered ranged between 70-1630 mg/L. The average value of suspend solid material was 345 mg/L (Table 3).

DISCUSSION

Oligochaeta was the dominant group of benthos in the river, while Chironomidae was the second dominant group of benthic fauna during the study period. Oligochaeta and Chironomidae larvae are usually abundant in benthos and play important roles in river ecosystems. The main reasons are that oligochaetes also feed on organic material in the water and are common in environments where large amounts of organic materials are present due to their ability to survive with low oxygen levels and other low-level conditions better than most other macrobenthos species (Yankson & Kendall, 2001). Like oligochaetes, chironomid larvae have also been used as indicators of organic pollution because they are often abundant in environments with low oxygen where organic material as a food resource is abundant (Coffman & Ferrington, 1996; Jenderedjian *et al.*, 2007). The composition and distribution of Oligochaeta species depend on many factors such as water temperature,

physical and chemical properties of the water, sediments, microfauna, and vegetation (Grigelis *et al.*, 1981). Up to now, there has been no study of the Meric River regarding benthic fauna and their relationships with physicochemical parameters. For this reason, there are no other studies to compare with our work. No Oligochaetes were found in February and October. In February, rain and snow may have increased the water level in the river. Thus, sampling may not have been done exactly at the river bed. In October, snowfall caused the water level in the river to rise and sampling could not be done.

In Özkan's study (1998), the average number of Chironomidae larvae was 481 per m^2 for 65 taxa. In our study, we found that the average number of Chironomidae larvae was 145 per m^2 for 17 taxa. If this study is compared with Özkan's findings (1998), we see that both the



Figures 2a-b. Bray Curtis Similarity Dendograms by sampling stations (a) and months (b) along the Meric River (Turkish Thrace) based on Oligochaeta species. st = station.

Table 2. Monthly distribution of benthic macroinvertebrates and number of individuals (per square meter) in the Meric River (Turkish Thrace).

Month/Benthic macroinvertebrates	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May.	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
Oligochaeta												
<i>Tubifex tubifex</i> (Müller, 1774)	0	0	0	0	278	330	5	0	8	0	31	59
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Claparède, 1862)	0	0	97	481	2038	889	319	508	353	0	291	722
<i>L. udekemianus</i> (Claparède, 1862)	0	0	0	0	0	0	0	86	5	0	0	22
<i>L. profundicola</i> (Verrill, 1871)	0	0	0	0	69	3	0	0	0	0	0	0
<i>Potamothrix hammoniensis</i> (Michaelsen, 1901)	0	0	11	155	295	11	15	4	5	0	0	0
<i>Nais bretscheri</i> (Michaelsen, 1899)	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
<i>N. elinguis</i> (Müller, 1773)	0	0	109	492	22	5	0	0	0	0	0	0
<i>Aulophorus furcatus</i> (Müller, 1774)	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
<i>Dero digitata</i> (Müller, 1773)	0	0	0	308	81	0	0	5	0	0	0	0
<i>D. obtusa</i> (D'Ukem, 1855)	0	0	0	0	0	39	0	0	0	0	0	0
<i>Ophidona serpentina</i> (Müller, 1773)	0	0	0	58	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lumbriculus</i> sp.	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
<i>Enchytraeidae</i>	5	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
Total	5	0	217	1494	2783	1286	339	603	375	0	322	803
Number of taxa	1	0	3	5	6	9	3	4	5	0	2	3
Chironomidae												
<i>Tanytarsus punctupennis</i> (Meigen, 1818)	0	0	0	0	3	75	0	3	3	0	0	0
<i>Pracladius</i> (<i>Holotanytarsus</i>) sp.	0	0	0	0	0	11	0	3	0	0	0	0
<i>Cricotopus</i> (<i>C.</i>) <i>bicinctus</i> (Meigen, 1818)	0	0	5	11	5	0	0	0	0	0	0	3
<i>Rheocricotopus fuscipes</i> (Kieffer, 1909)	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>Chironomus anthracinus</i> (Zetterstedt, 1860)	0	0	0	22	17	66	8	8	3	0	0	0
<i>C. (C.) tentans</i> (Fabricius, 1805)	0	0	0	308	230	94	30	8	8	0	13	8
<i>C. plumosus</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	0	30	19	0	3	8	0	0	0	0
<i>Stictochironomus</i> sp.	0	0	0	0	3	0	0	7	0	0	0	0
<i>Polypedilum aberrans</i> (Chernovskij, 1949)	0	0	0	94	14	129	200	30	69	3	0	0
<i>Pentapedilum exectum</i> (Kieffer, 1915)	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paratendipes albimanus</i> (Meigen, 1818)	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptochironomus defectus</i> (Kieffer, 1913)	0	0	0	0	3	5	36	5	11	0	0	3
<i>Einfeldia pagana</i> (Meigen, 1838)	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0
<i>Potthastia alternis</i> (Sahin, 1987)	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tanytarsus gregarius</i> (Kieffer, 1909)	0	0	0	3	8	11	16	0	14	3	0	0
<i>Virgotanytarsus arduensis</i> (Kieffer, 1909)	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0	0	0
<i>Rheotanytarsus</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
Total	0	0	5	477	308	391	296	72	153	6	13	14
Number of taxa	0	0	1	8	11	7	7	8	9	2	1	3
Other benthic invertebrates												
Diptera	0	0	0	0	10	3	0	0	0	0	0	0
Gastropoda	0	0	0	0	28	25	0	5	0	0	0	0
Bivalvia	0	0	0	0	3	0	3	0	0	0	0	0
Ephemeroptera	0	0	0	0	3	2	3	0	17	0	0	0
Odonata	0	0	0	3	3	7	6	3	36	7	6	5
Coleoptera (larvae)	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
Trichoptera (larvae)	0	0	0	3	3	0	0	5	0	3	0	5
Hemiptera	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0
Isopoda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Total	0	0	5	483	358	433	308	88	213	19	19	32
Number of taxa	0	0	1	2	6	5	3	3	3	2	1	3

individual and taxa number of Chironomidae larvae are declining. The main reasons for the decline of this species are habitat loss, pollution, meteorological factors, and changes in the structure of the river bottom.

Uzunov (1980) reported that there were 8 families for a total of 79 species along the Bulgarian segment of the Meric River. In the study of the Meric River by Uzunov *et al.* (1981), the following taxa were found: Oligochaeta (54), Gastropoda (7), Bivalvia (2), Isopoda (1), Ephemeroptera (45), Odonata (9), Heteroptera (10), Diptera (39). In Russev and Janeva's study (1983), 46 Ephemeroptera species were found. In Uzunov and Kapustina's study (1993), they found 54 Oligochaeta taxa.

According to SKKY (2004), the water temperature, pH, chloride, sulphate, phosphate, and nitrate values were found to be of first quality level. The value of dissolved oxygen was found to be at a second quality, whereas nitrite-N was found to be between second and third quality level. Biological oxygen demand was at fourth quality level. The relationships between the Oligochaeta species and the physicochemical parameters were evaluated by the Spearman correlation index. According to this index, the abundance of *Limnodrilus hoffmeisteri* (Claparède, 1862) showed positive correlations of water temperature ($r = 0.627, p < 0.05$), electrical conductivity ($r = 0.605, p < 0.05$), magnesium ($r = 0.805, p < 0.01$), salinity ($r = 0.717, p < 0.01$), chloride ($r = 0.580, p < 0.05$), phosphate ($r = 0.609, p < 0.05$), pH ($r = 0.596, p < 0.05$). There was a negative correlation to nitrate ($r = -0.600, p < 0.05$). The abundance of *L. udekemianus* showed positive correlations to hydrogen sulfide ($r = 0.739, p < 0.01$), dissolved oxygen ($r = 0.736, p < 0.01$), phosphate ($r = 0.603, p < 0.05$), and biological oxygen demand ($r = 0.709, p < 0.01$). The abundance of *Nais elinguis* (Müller, 1773) showed positive correlations to hydrogen sulfide ($r = 1.000, p < 0.01$), and negative correlations

to nitrate ($r = -0.604, p < 0.05$). The abundance of *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) showed positive correlations to calcium ($r = 0.633, p < 0.05$), chloride ($r = 0.640, p < 0.05$), and phosphate ($r = 0.591, p < 0.05$). The abundance of *Potamothrrix hammoniensis* (Michaelsen, 1901) showed positive correlations to water temperature ($r = 0.697, p < 0.05$), and negative correlations to nitrate ($r = -0.636, p < 0.05$).

Compared with previous studies of Kalebaşı (1994) and Ozkan (1998), the river water has become alkaline. Dissolved oxygen content had dropped.

Electrical conductivity is higher at station 8 than at the other stations. The Ergene River has been adversely affected by increasing population, industrial activities, heavy pesticides and fertilizer use in agriculture, and domestic wastes. Water hardness was found to be at an intermediate level. Since there are no previous studies of water hardness, we cannot make a comparison. Suspended solid material averaged 348 mg/L in the river. Suspended solids in a body of water are often due to natural causes. These natural solids include organic and inorganic materials such as silt and sediment. The majority of suspended sediment in water bodies comes from runoff and erosion. Some of the more common suspended solid pollutants are wastewater effluent, sewage, and airborne particulates.

Rivers are open, dynamic ecosystems whose physical, chemical, and biotic characteristics are greatly influenced by anthropogenic activities within their drainage basins (Moyaka *et al.*, 2004).

The river, originating in Bulgaria, receives wastewater from industrial plants in the Kapikule. At first, it merges with the Arda River, and later with the Tunca River. After passing through rice fields, it joins the

Table 3. The average physicochemical parameters of the Meric River (Turkish Thrace) during the study in 2011. W.T. = Water temperature; E.C. = Electrical Conductivity; D.O. = Dissolved oxygen; S.S.M. = Suspended Solid material; T.H. = Total hardness; BOD = Biological oxygen demand.

Months/ Parameters	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
W. T. (°C)	4.31	5.25	9.31	13.8	20.3	25.5	28.3	26.3	23.4	12	6.3	7.6
pH	8.86	8.17	7.96	8.13	8.4	9.08	8.48	8.41	8.34	8.16	8.26	8.45
E.C. (μS/cm)	295.6	349.7	411.2	417.1	539.1	619.8	649.2	618.3	685.3	453.7	510.1	484
D.O. (mg/L)	4.73	5.31	5.09	3.01	4.92	5.16	4.99	7.27	6.99	6.28	6.82	5.87
Salinity (‰)	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.09	0.06	0.06	0.08	0.07	0.08	0.07
Cl ⁻ (mg/L)	27.4	27.8	33.4	23.4	30.9	35.2	42.3	30.8	53.9	32.3	41.1	40.9
H ₂ S (mg/L)	0.000	0.000	0.026	0.346	0.266	0.399	0.000	0.213	0.079	0.000	0.000	0.000
S.S.M. (mg/L)	383.7	270	360	343.7	372.5	448.7	462.5	200	342.5	287.5	373.7	347.5
Ca ⁺² (mg/L)	44.28	43.37	47.19	55.5	56.7	58.01	41.87	57.51	63.82	58.21	71.63	59.71
Mg ⁺² (mg/L)	7.07	7.62	8.77	14.52	12.4	14.76	24.57	17	24.51	16.46	28.6	22.88
T. H. (FS°)	11.2	13.7	15.4	7.85	9.02	8.37	20.6	20.67	26.05	21.07	29.7	24.92
NO ² -N (mg/L)	0.03	0.028	0.053	0.02	0.019	0.08	0.024	0.016	0.074	0.028	0.028	0.007
NO ³ -N (mg/L)	8.318	8.191	9.643	6.258	5.041	3.426	0.683	2.759	7.751	3.504	4.153	10.44
PO ₄ ⁻³ (mg/L)	0.041	0.041	0.075	0.053	0.061	0.044	0.02	0.064	0.085	0.052	0.069	0.227
SO ₄ ⁻² (mg/L)	1.044	1.218	1.567	1.037	2.07	1.908	2.383	1.798	2.242	2.045	2.873	1.952
BOD (mg/L)	15.83	19.47	21.2	11.46	21.66	40.41	40.55	62.85	61.77	53.96	54.25	44.65

Ergene River. The Ergene River has been adversely affected by increasing population, industrial activities, heavy pesticide and fertilizer use in agriculture, and domestic wastes. The Ergene River is the main source of pollution in the Meric Basin.

The river, an important irrigation source for the Thrace region, is a natural resource that must be used and preserved in a stable manner. As a result, both physicochemical properties and the results of tests on macrobenthic fauna indicate that the water quality of this river is organically polluted.

In recent years, due to population growth, rapid urbanization, and increasing discharge of solid wastes, water pollution problems are emerging.

Many industries still discharge untreated wastes and wastewaters into rivers. This should not be done if the goal is to assure sustainable use of the river water. Industrial wastewater contains pollutants. Only the necessary fertilizers and insecticides should be used at the appropriate dose. All the components that make up the river basin should be defined and managed together as a system. Because the Meric is both a trans-boundary and a border river, Turkey, Bulgaria, and Greece need to cooperate in order to develop and manage its waters. This would involve undertaking joint projects and studies. These and similar studies should be done regularly to monitor and determine how river water can be used sustainably to maintain its quality. The change of water quality in the river must be recorded.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Dr. Belgin Camur Elipek and Dr. Burak Öterler for their helps during the field works and guidances. We would like to thank Dr. Nurten Hacet for Odonata diagnosis. This research has been supported by TUBAP 2010-168 Project.

REFERENCES

- BRINKHURST, R. O. & B. G. M JAMIESON. 1971. *Aquatic Oligochaeta of the World*. Oliver & Boyd, Edinburg.
- BRINKHURST, R. O. & M. J WETZEL. 1984. *Aquatic Oligochaeta of the World: Supplement, A Catalogue of New Freshwater Species, Descriptions and Revisions*, No: 44, Canadian Technical Report of Hydrography and Ocean Sciences, Canada. 101 p.
- COFFMAN, W. & L. JR. FERRINGTON. 1996. Chironomidae. In: R Merritt & K. Cummins (ed). *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. Dubuque, Iowa, USA, Kendall/Hunt Publishing Company. pp. 591-754.
- CANSTON, P. S. 1982. A Key to the Larvae Orthocladiinae of the British. *Freshwater Biological Association Scientific Publication* 4: 1-152.
- DETACHEVA, R. 1981. Etude de la composition et de la repartition saisonniere des Ciles de la riviere Maritsa. *Hydrobiologia* (Sofia) 14: 16-30.
- DETACHEVA, R. 1982. Caracteristiques ecoloques des Ciles de la riviere Maritsa. *Annual Statistica Biologica Besse-en-Chandesse* 16: 200-219.
- DIMITROV, M. 1966. Chironomidae Larvae (Family Chironomidae, Diptera) and Oligochaeta (Order Oligochaeta) of the Maritsa River and Some of its Tributaries. In: Die Fauna Thrakiens(Sammelwerk), BAN, Zoologisches Institut und Museum, Band III, 309-318 (In Bulgarian, Russian summary).
- EMIR, B. D. 1990. Meric Basin Environmental Problem Research Project (Preliminary Report). Thrace University Environmental Problem Research and Application Center (In Turkish).
- GEORGIEV, D. G. 2006. The Fish Species Participation in Otters (*Lutra lutra*) Diet in Maritsa River, West of Plovdiv Town (Southern Bulgaria). *Animalia* 42:153-159.
- GRIGELIS, A., R. LENKAITIS, O. NAINAITÉ & E. ŽUKAITÉ. 1981. Peculiarities of Distribution of Cold-Stenotherm Hydrobionts in Lakes of the National Park of the Lithuanian SSR. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 21: 501-503.
- JENDEREDJIAN, K., S HAKOBYAN & A. JENDEREDJIAN. 2007. Use of benthic invertebrates as indicators of pollution origin in agricultural and urban areas. In: A.Ebel, T. Dvitzashvili (ed). *Air, Water and Soil Quality Modelling for Risk and Impact Assessment*. NATO Security through Science Series C: Environmental Security, Netherlands: Springer Publishers. pp. 217-220.
- KALEBASI, Y. 1994. *Investigation of Chemical Pollution of Meric River*. Trakya University, Department of Chemistry, Master Thesis. (in Turkish with English abstract). 84 p.
- KATHMAN, R. D. & R. O BRINKHURST. 1998. *Guide to The Freshwater Oligochaetes of North America*. Aquatic Resources Center, Tennessee, USA, 264 p.
- KOVACHEV, S. 1985. The Simuliid Complex of the Maritsa River as Example of a Highly Destructed Taxacenosis. *Hydrobiologia* (Sofia) 26: 53-58 (In Bulg.).
- KREBS, C. J. 1999. *Ecological Methodology*. Addison Wesley Longman, Inc., Menlo Park, California. 620 p.
- MILLIGAN, R. M. 1997. *Identification Manual for The Aquatic Oligochaeta of Florida Volume I, Freshwater Oligochaetes*. State of Florida Department of Environmental Protection Tallahassee, Florida, 187 p.
- MOYAKA, S. K., J. M. MATHOOKO & M. LEICHTFRIED. 2004. Influence of anthropogenic activities of water quality of a tropical stream ecosystem. *Africa Journal Ecology* 42: 281-288.
- OSRAM (MIDDLE EAST STRATEGIC RESEARCH CENTER). 2011. *Water Research Program*. "International Cooperation" Mandatory in Water Management of Meric River Basin, April 2011. Report No. 4: 1-47.
- OZKAN, N. 1998. The Dynamics of the Chironomidae (Diptera) Larvae in Some Tributary with Meric and Ergene Rivers, Trakya University, Institute of Natural Science, PhD Thesis, 143 p. (In Turkish with English abstract).
- PINDER, K. & F. RREISS. 1983. The Larvae of Chironominae (Diptera:Chironomidae) of the Holarctic Region- Keys and Diagnoses. *Entomologica Scandinavica Suppl.* 19: 293-435. Lund Sweden. ISSN:0105-3574.
- ROZDINA, D., G. RAICOVA-PETEROVA, R. MARINOVA & E. UZUNOVA. 2008. Food Spectrum and Feeding of *Barbus cyclolepis* Heckel from the Middle Stream of Maritsa River (Bulgaria). *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 14 (2): 209-213.

- RUSSEV, B. K., 1970. *Review of the Saprobiological Condition of the major Rivers in Bulgaria*. FAO. EIFAC, 70/SC III-2.
- RUSSEV, B. K. & I. J. JANEVA. 1983. The Significance of Mayflies (Ephemeroptera, Insecta) as Structural Constituents of Benthic Zoocenoses of the Maritsa River. *Hydrobiology* 19: 14-24.
- RUSSEV, B. K., J. I. UZUNOV, S. G. KOVACHEV, I. Y. YANEVA & L. S. IVANOVA. 1981. Tendencies of the Changes in the Saprobiic Conditions of the Maritsa River. *Hydrobiology* 14: 51-64.
- SEATHER, O. A. 1980. Glossary of Chironomid Morphology Terminology (Diptera:Chironomidae). *Entomologica Scandinavica Suppl.* 14: 1-51. Lund, Sweden. ISSN:0105-3574.
- SKKY (Su KIRLILIĞI KONTROL YÖNETMELİĞİ). 2004. *Water Pollution Control Regulation*. Published Official Journal. Date 31.12.2004, Number: 25687
- STEFANOVA, E., E. UZUNOVA, T. HUBENOVA, P. VASILEVA, D. TERZIVSKI & I. ILIEV. I. 2008. Age and Growth of Chub, *Leuciscus cephalus* L. from the Maritsa River (South Bulgaria). *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 14 (2): 214-220.
- TCSV (TURKEY ENVIRONMENTAL PROBLEMS FOUNDATION). 1989. *Wetlands of Turkey*. Publication of the Turkish Foundation for Environmental Problems.
- TIMM, T. 1999. *A Guide to the Estonian Annelida*. Naturalist's Handbooks 1. Estonian Academy Publishers, Tartu-Talinn. 208 p.
- UNECE (UNITED NATIONS ECONOMIC COMMISSION FOR EUROPE). 2009. *Convention on the Protection and Use of Transboundary Water Courses and International Lakes*. Transboundary Flood Risk Management: Experiences from the UNECE Region , United Nations Publication. ISBN:978-92-I-II70II-5.
- UZUNOV, J. 1976. Study on the water representatives of the class oligochaeta in Bulgaria. *Hydrobiology* (Sofia) 4: 71-75 (In Bulgarian).
- UZUNOV, J. 1980. Water Oligochets (Oligochaeta, Limicola) from Some Bulgarian Rivers. Frequency and Domination. *Hydrobiology* 12: 79-89.
- UZUNOV, J. 1981. Aquatic Oligochaetes (Oligochaeta) from the Maritsa River. *Hydrobiology* (Sofia) 15: 31-50 (In Bulgarian).
- UZUNOV, J., B. K. RUSSEV, S. G. KOVACHEV & I. J. JANEVA. 1981. Species List and Distribution of the Macrofauna of the River Maritsa. *Hydrobiology* 14: 3-14.
- UZUNOV, J & S. G KOVACHEV. 1981. The Effect of the substrate on the Structure of the Macrozoobenthic Communities in the Maritsa River. *Hydrobiology* (Sofia) 15: 65-74 (In Bulgarian).
- Uzunov, Y. & L. Kapustina. 1993. Current Review on Oligochaeta from Macrozoobenthic Communities of the Bulgarian Rivers. *Lauterbornia* 13: 73-83.
- WETZEL, M. J., R. D. KATHMAN, S. V. FEND & K. A. COATES. 2000. *Taxonomy, Systematics and Ecology of Freshwater Oligochaeta*. Workbook Prepared for North American Benthological Society Technical Workshop, 48th Annual Meeting, Keystone Resort, CO. 120 pp. + app.
- YANKSON, K. & M. KENDALL. 2001. *A Student's Guide to the Seashore of West Africa*. Darwin Initiative Report 1, Ref. 162/7/45. 132.p

Eficiencia de lectinas como inmunoindicadores en juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei* (Malacostraca: Penaeidae)

Efficiency of lectins as immune indicators in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Malacostraca: Penaeidae)

Miriam Victoria Martín-Manzo¹*, Carlos Angulo¹, Edgar Zenteno-Galindo², Arturo Pedro Sierra-Beltrán¹, Concepción Agundis-Mata², Felipe Ascencio¹, María Antonia Guzmán-Murillo¹, Irasema Elizabeth Luis-Villaseñor³, Alí Pereyra² y Ángel Isidro Campa-Córdova¹

Recibido: 12 de septiembre de 2017.

Aceptado: 19 de octubre de 2018.

Publicado: 14 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: Las lectinas actúan como unidades de reconocimiento para facilitar la eliminación de patógenos invasivos en plantas y animales, participan en mecanismos de defensa y actúan como mediadores de reconocimiento en la respuesta inmune de invertebrados. Existen pocos estudios dirigidos a evaluar el efecto de inmunoestimulantes sobre la activación de lectinas en crustáceos. **Objetivos:** Evaluar la concentración de lectina en juveniles de camarón blanco tratados con inmunoestimulantes de origen microbiano y comercial.

Métodos: Se utilizaron cinco tratamientos agregados directamente al agua de cultivo cada tercer día durante 12 días: 1) laminarina (0.5 mg ml^{-1}); 2) mezcla 1 (*Bacillus tequilensis* y *B. licheniformis*; $2 \times 10^6 \text{ UFC ml}^{-1}$, proporción 1:1); 3) mezcla 2 (*B. endophyticus*, cepa YC3-B y cepa C2-2; $2 \times 10^6 \text{ UFC ml}^{-1}$, proporción 1:1); 4) *Debaryomyces hansenii* ($1 \times 10^6 \text{ UFC ml}^{-1}$); 5) control (sin inmunoestimulantes). Después de los 12 días de tratamiento se tomaron muestras de hemolinfa a las 24, 48 y 72 h para la cuantificación de lectina en plasma, para ello se utilizaron anticuerpos monoclonales contra la lectina de *Macrobrachium rosenbergii* (MrL). **Resultados:** A las 24 h posteriores a la última aplicación del tratamiento, se registraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la concentración de lectina en el plasma de *L. vannamei* de los camarones expuestos al inmunoestimulante comercial laminarina respecto al grupo control, seguida por la mezcla 1 y la mezcla 2 a las 72 horas después de la aplicación de los tratamientos. A las 48 h no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos y el grupo control. No se encontraron diferencias significativas en los camarones expuestos a la cepa de *D. hansenii* respecto al grupo control. **Conclusiones:** Se observó que la concentración de lectina en el plasma de camarón blanco puede incrementarse por el uso de inmunoestimulantes y utilizarse como herramienta bioindicadora de inmunoestimulación.

Palabras clave: anticuerpos monoclonales, inmunoestimulantes, lectinas, *Litopenaeus vannamei*

*Author for correspondence:

angcamp04@cibnor.mx

To cite as:

Martín-Manzo M. V., C. Angulo, E. Zenteno-Galindo, A. P. Sierra-Beltrán, C. Agundis-Mata, F. Ascencio, M. A. Guzmán-Murillo, I. E. Luis-Villaseñor, A. Pereyra y Á. I. Campa-Córdova. 2018. Eficiencia de lectinas como inmunoindicadores en juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei* (Malacostraca: Penaeidae). *Hidrobiológica* 28 (3): 287-294.

DOI:

ABSTRACT

Background: Lectins act in plants and animals as recognition units against invasive pathogens, participate by activating the immune system, and function as recognition mediators of immune response in invertebrates. Few studies have evaluated the effect of immunostimulants on the activation of lectins in crustaceans.

Goals: To evaluate the lectin concentration in juvenile shrimp treated with commercial and microbial immunostimulants. **Methods:** Five treatments were added directly to the culture tanks every third day during 12 days: 1) laminarin (0.5 mg ml^{-1}); 2) mix 1 (*Bacillus tequilensis* and *B. licheniformis*; $2 \times 10^6 \text{ CFU ml}^{-1}$, 1:1 proportion); 3) mix 2 (*B. endophyticus*, strain YC3-B and strain C2-2; $2 \times 10^6 \text{ CFU ml}^{-1}$, proportion 1:1); 4) *Debaryomyces hansenii* ($1 \times 10^6 \text{ CFU ml}^{-1}$); 5) control (without immunostimulants). At day 12, after the last treatments were added, samples of hemolymph were extracted from shrimp at 24, 48, and 72 h to determine lectin concentration by the ELISA method, using monoclonal antibodies against *Macrobrachium rosenbergii* lectin (MrL). **Results:** Significant differences ($p < 0.05$) in the lectin concentration were found in shrimp groups treated with laminarin at 24 h after the last exposure to the treatment, followed by mix 1 and mix 2 at 72 h after exposure to the treatments. At 48 h, treatments did not register significant differences ($p > 0.05$) when compared to the control groups. Shrimp exposed to *D. hansenii* did not show significant increase in lectin concentration compared to the control groups. **Conclusions:** This study showed that lectin concentration may be increased in plasma of juvenile shrimp and used as a bioindicator tool of immunostimulation.

Keywords: immunostimulants, lectins, *Litopenaeus vannamei*, monoclonal antibodies

INTRODUCCIÓN

Los camarones carecen de una respuesta inmune específica o adaptativa, por lo que dependen de su sistema innato para combatir a los patógenos que los afectan. Este sistema incluye la protección por barreras físicas y la defensa interna mediada por efectores celulares (hemocitos) y humorales (plasma) (Tassanakajon *et al.*, 2013). Dentro del sistema humorar se encuentran las lectinas, que actúan como unidades de reconocimiento para facilitar la eliminación de patógenos invasivos y desencadenar diferentes mecanismos de defensa (Wang & Wang, 2013; Lu *et al.*, 2017); entre ellos, aglutinación, fagocitosis mediada por opsonización y encapsulación de virus, bacterias y hongos y activación del estallido respiratorio. Además, las lectinas participan en la activación del sistema profenoloxidasa y algunas pueden presentar actividad antimicrobiana (Wei *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2014ab; Wang *et al.*, 2014).

Los inmunoestimulantes se encuentran disponibles como tratamientos alternativos, que actúan como moléculas de alarma para activar el sistema inmune del camarón (Pais *et al.*, 2008). La mayoría son compuestos químicos que se encuentran como elementos estructurales de bacterias, micelios de hongos y levadura (Alpuche *et al.*, 2005). Los inmunoestimulantes más utilizados para evaluar los efectos que provocan sobre el sistema inmune de camarones forman parte del grupo de los lipopolisacáridos (LPS), β -1,3/1,6 glucanos y peptidoglucanos (Amparyup *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2016).

Los glucanos han sido ampliamente utilizados como inmunoestimulantes para aumentar la resistencia de los crustáceos contra las enfermedades virales (Wilson *et al.*, 2015). Se han realizado varios estudios sobre el efecto de los β -1,3 glucanos en algunos factores de la respuesta inmune innata de los camarones (Campa-Córdova *et al.*, 2005; Sukumaran *et al.*, 2010; Sarlin & Philip, 2011; Zhao *et al.*, 2012). De forma similar, los peptidoglucanos han tenido éxito al ser utilizados como inmunoestimulantes en los camarones (Itami *et al.*, 2002; Purivirojkul *et al.*, 2006; Pan *et al.*, 2015). Además, en varias investigaciones se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* pueden estimular la respuesta del sistema inmune o la resistencia al virus de la mancha blanca (Li *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011; Chai *et al.*, 2016). Sin embargo, son pocos los estudios enfocados en evaluar el efecto de los glucanos y de los peptidoglucanos de bacterias y levaduras en la inmunoestimulación de lectinas en camarones (Sritunyalucksana *et al.*, 1999; Pais *et al.*, 2008; Bae *et al.*, 2012). Considerando que los anticuerpos monoclonales antilectina de *Macrobrachium rosenbergii* (MrL) (De Man, 1879) presentaron reacción cruzada con lectinas de diferentes crustáceos (Pereyra *et al.*, 2009), en este estudio se utilizaron anticuerpos monoclonales contra la lectina de MrL para evaluar el efecto de diferentes inmunoestimulantes sobre la concentración de lectina en la hemolinfa de *L. vannamei* (Boone, 1931).

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales. Se utilizaron juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, obtenidos de los estanques de cultivo del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (Cibnor, La Paz, Baja California Sur, México). Los camarones fueron aclimatados durante 15 días (antes de iniciar los experimentos) en tanques de fibra de vidrio de 1,500 l con agua de mar filtrada (5 μm) a una temperatura de 28 °C y aireación constante. Los camarones fueron alimentados diariamente *ad libitum*

en la mañana y en la tarde (8:00 am y 5:00 pm) por medio del alimento comercial marca Piasa (La Paz, B.C.S., México) con 35 % de proteína.

Obtención de hemolinfa de camarón para la purificación de lectinas. Previo al bioensayo con inmunoestimulantes, se extrajo hemolinfa a un lote de 30 camarones juveniles de 8.0 ± 0.5 g de peso promedio. A cada camarón se le extrajo un aproximado de 1 ml de hemolinfa sin anticoagulante en la base del pleópodo del primer segmento abdominal, cerca del poro genital. La hemolinfa fue centrifugada a 16,000 g por 30 min para obtener el plasma, el cual se mantuvo en congelación a -4 °C hasta su utilización (Alpuche *et al.*, 2005).

Aislamiento y purificación de lectinas. Las lectinas de *L. vannamei* se purificaron por cromatografía de afinidad con una matriz de eritrocitos de rata lisados y contenidos en una columna de Sephadex G-25 (15 x 2 cm) mediante el método de Alpuche *et al.* (2005) modificado. La columna fue equilibrada con solución salina al 0.9%, a la cual se le aplicaron 300 μl de plasma de *L. vannamei* (previamente incubados 20 min a 37 °C con 300 μl de CaCl_2 40 mM) a un flujo de 2 ml min^{-1} . Mientras que el material no retido fue eluido con solución salina al 0.9% hasta que la densidad óptica a 280 nm de las fracciones colectadas (2 ml) fue menor a 0.001. La lectina fue eluida posteriormente de la columna por medio de ácido acético al 3%.

Caracterización de lectina de *L. vannamei*. La determinación de proteínas se realizó por el método de Bradford (1976). Las muestras se leyeron a una absorbancia de 570 nm y se calculó la concentración de proteínas en mg ml^{-1} de suero de camarón.

Determinación del peso molecular de la lectina. Para identificar el grado de homogeneidad y determinar el peso molecular de la lectina, se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida con urea de acuerdo al método descrito por Bollag *et al.* (1996). La lectina purificada (100 μL o 25 μL , según la turbidez de la muestra) fue precipitada con acetona y ácido tricloroacético (TCA) al 20% y fue suspendida en 20 μL de amortiguador de muestra (Tris-HCl 125 mM, urea 6 M, SDS 4%, glicerol 20%, azul de bromofenol 0.02%, DTT 0.2 M). También se realizó una electroforesis del suero (fracción no retenida y fracción retenida) de acuerdo con el método descrito por Laemmli (1970), en el cual se utilizan geles de poliacrilamida al 10% y dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). Se usaron 2 μl de agregado de lectina (fracción retenida), 20 μg de suero y 20 μg de la fracción no retenida, los cuales fueron precipitados con TCA al 20% y acetona, y suspendidos en 15 μL de amortiguador (Sigma). Posteriormente, fueron sometidos a ebullición por 10 minutos. Se utilizaron estándares de peso molecular conocido con un rango de 6.5 a 205 kDa (Amersham Biosciences, Reino Unido). La migración electroforética se realizó aplicando un voltaje constante de 80 V en amortiguador de corrida (TRIS 0.025 M, glicina 0.190 M, SDS 0.2%). El gel se tiñó con plata mediante el kit Bio-Rad Silver Stain (<http://www.bio-rad.com/es-mx/product/silver-stains-kits>). La migración relativa (Rf) de los estándares y la muestra se calcularon con la fórmula: Rf = distancia de migración de la proteína/distancia de migración del colorante, y para calcular el peso molecular de la lectina purificada se construyó una curva estándar.

Actividad hemaglutinante de la lectina. Se obtuvieron eritrocitos de ratón, rata, conejo, hámster y cuyo del bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM, así como eritrocitos humanos tipo A, B y O del banco de sangre del Instituto Mexicano del Seguro Social (Méjico). Se evaluó la actividad hemaglutinante de lectinas de camarón con base

en el método descrito por Alpuche *et al.* (2005) para *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767). La actividad hemaglutinante se reportó como el inverso de la última dilución que mostró actividad aglutinante visible. Los ensayos de hemaglutinación también se realizaron en presencia de eritrocitos tratados previamente con sialidasa [0.1 U de sialidasa tipo V de *Clostridium perfringens* (Sigma Chem. Co., St. Louis, Estados Unidos)] por 0.5 ml de paquete de eritrocitos incubados a 37 °C por 30 min, usando como control positivo lectina *Arachis hypogaea* (Linnaeus, 1753) (Sigma), y con tripsina (0.5 mg de tripsina Sigma por 0.5 ml de paquete de eritrocitos incubados 1 h a temperatura ambiente, usando como control positivo lectina de amaranto).

Especificidad. La especificidad de la lectina por los azúcares se determinó comparando la actividad inhibitoria de varios carbohidratos (D-Galactosa, D-Galactosamina, N-Acetyl-D-Galactosamina, D-Glucosa, D-Glucosamina, N-Acetyl-D-glucosamina, D-Manosa, D-manosamina, L-fucosa). Se realizaron diluciones dobles seriadas en solución salina-Calcio del suero de camarón en platos U de microtitulación y se incubaron 30 min a 37 °C con 25 µL de azúcares a 400 mM. Inmediatamente después, se añadieron 25 µL de eritrocitos de conejo al 2% en PBS. La capacidad inhibitoria se expresó en porcentaje de inhibición, que corresponde al porcentaje que disminuyó la actividad hemaglutinante inicial de 512 UHA.

Preparación de inmunoestimulantes. La cepa probiótica de levadura *Debaryomyces hansenii* [(Zopf) Lodder and Kreger-van Rij, cepa DHHBCS005], que se obtuvo de la Colección de Levaduras Marinas del Cibnor, fue cultivada en 500 ml del medio YPD-calido (Difco), a 30 °C durante 48 h. La levadura fue suspendida en agua de mar estéril con 0.9 % de NaCl y se determinó la concentración utilizando una densidad óptica de 540 nm en colorímetro (Linson 3) hasta llegar a una absorbancia de 1 para obtener una concentración de 1×10^9 UFC ml⁻¹. A partir de la concentración que se obtuvo, se realizaron las diluciones requeridas en los bioensayos para utilizar una concentración final de 1×10^6 UFC ml⁻¹.

Bacterias del género *Bacillus* (*B. tequilensis* Gatson *et al.*, 2006; *B. licheniformis* Weigmann, 1898; *B. endophyticus* Reva *et al.*, 2002), que fueron aisladas del intestino de *L. vannamei* (Luis-Villaseñor *et al.*, 2011) y donadas por el Laboratorio de Patología del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, fueron cultivadas en 500 ml de caldo marino, a 30 °C durante 24 h. Las bacterias fueron suspendidas en agua de mar estéril con 0.9 % de NaCl y se determinó la concentración por medio del colorímetro Linson 3, a una longitud de onda de 540 nm hasta llegar a una absorbancia de 0.7 para obtener una concentración de 1×10^9 UFC ml⁻¹. A partir de la concentración obtenida, se realizaron las diluciones requeridas en los bioensayos para utilizar una concentración final de 1×10^6 UFC ml⁻¹ de cada una de las cepas bacterias. Se hicieron dos mezclas de bacterias: mezcla 1, YC5-2: *Bacillus tequilensis* (1×10^6 UFC ml⁻¹) y YC3-C *Bacillus licheniformis* (1×10^6 UFC ml⁻¹); mezcla 2, YC3-B: *Bacillus endophyticus* (1×10^6 UFC ml⁻¹) y C2-2: *Bacillus endophyticus* (1×10^6 UFC ml⁻¹).

Se utilizó la laminarina (β -1,3 glucano), que se extrajo de la macroalga *Laminaria digitata* (Hudson) J.V.Lamouroux, como inmunoestimulante comercial (Sigma # Cat. L-9634). Las suspensiones de β -1,3 glucano se mezclaron en 10 L de agua de mar para obtener una concentración final de 0.5 mg ml⁻¹.

Cultivo de juveniles de *L. vannamei* tratados con inmunoestimulantes comerciales y *Debaryomyces hansenii*. Se colocaron 5 grupos con 15 camarones cada uno, con peso promedio de 5 ± 0.1 g en tanques de fibra de vidrio con capacidad de 30 L con agua de mar filtrada a 1 µm con aireación constante y una temperatura de 28 °C ± 0.5. Los 5 tratamientos se agregaron directamente al agua de cultivo cada 48 h durante 12 días de cultivo: 1) Control, sin tratamientos; 2) Laminarina (β -1,3 glucano, 0.5 mg ml⁻¹); 3) mezcla 1 (*B. tequilensis*, 1×10^6 UFC ml⁻¹; *B. licheniformis*, 1×10^6 UFC ml⁻¹); 4) mezcla 2 (*B. endophyticus*, 1×10^6 UFC ml⁻¹; *B. endophyticus*, 1×10^6 UFC ml⁻¹); 5) levadura (*D. hansenii*, 1×10^6 UFC ml⁻¹). Los camarones fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial (Piasa, 35 % de proteína) dos veces con recambio de agua diario del 60%. Los tratamientos se realizaron por triplicado y se tomaron al azar 3 camarones de cada grupo, a las 24, 48 y 72 h después de la última aplicación de los tratamientos (día 12), para la cuantificación de lectinas.

Obtención de hemolinfa de camarones tratados. A cada camarón se le extrajo una muestra de aproximadamente 0.2 ml de hemolinfa de la base del pleópodo del primer segmento abdominal, cerca del poro genital. Para evitar la coagulación de la muestra se utilizó una solución anticoagulante (SIC-EDTA). El anticoagulante fue diseñado con base en los valores iónicos y osmóticos de la hemolinfa del camarón (450 mM NaCl, 10 mM KCl, 10 mM EDTA-Na₂, 10 mM HEPES, pH 7.3, 850 mOsm kg⁻¹) de acuerdo con la técnica descrita por Vargas-Albores *et al.* (1993). Las muestras se centrifugaron a 800 g-rfc por 10 min a 4 °C para obtener el plasma, el cual se mantuvo en congelación a -20 °C hasta su posterior utilización.

Determinación de la concentración de lectina. La concentración de lectina en la hemolinfa del camarón blanco se determinó por ELISA en placas de poliestireno, al utilizar anticuerpos monoclonales contra la lectina de *Macrobrachium rosenbergii* (MrL) de acuerdo al método descrito por Agundis *et al.* (2000), con algunas modificaciones. En breve, el plasma de *L. vannamei* fue diluido 1/10 en 0.1 M de amortiguador de carbonato (pH 9.5) y se fijó al fondo de los pozos con una incubación de 100 µL de amortiguador de carbonato (pH 9.5) a 37 °C durante una hora y posteriormente a 4 °C toda la noche; después, las placas se lavaron cuatro veces con PBS adicionado de 0.01% Tween 20 (PBS-T). Los sitios de unión inespecíficos fueron bloqueados con 300 µL de PBS con 5% de leche descremada e incubados 60 min a 37 °C, para luego ser lavados 4 veces con PBS-T. Después se agregaron 100 µL de anticuerpos marcados con peroxidasa en una dilución de 1:100 y se incubaron por 90 min a 37 °C. Las placas se lavaron exhaustivamente con PBS-T y la reacción fue revelada al añadir 100 µL de O-fenilendiamina y H₂O₂ en 100 mM de amortiguador de citratos (pH 5.6). La reacción se detuvo al agregar 100 µL de 3N HCl y las muestras se leyeron a 492 nm en un lector de ELISA. La estandarización de la curva se realizó mediante lectina MrL y anticuerpos contra la lectina MrL de acuerdo con el método descrito por Agundis *et al.* (2000).

Para confirmar que los anticuerpos monoclonales de MrL reconocen a la lectina de *L. vannamei* se realizó un Western blot. La lectina de *L. vannamei* fue separada electroforéticamente en un gel de poliacrilamida con urea al 10%, de acuerdo con el método descrito por Bollag *et al.* (1996); después fue transferida a una membrana de nitrocelulosa, como indica el método descrito por Towbin *et al.* (1979), por medio de un aparato de transferencia semi-seca (Bio-Rad) a 25 mV por 1.5 h. Los sitios de unión inespecíficos fueron bloqueados con PBS-leche toda la

noche a 4 °C y posteriormente se lavaron con PBS-T varias veces. La membrana se incubó con anticuerpos contra la lectina de MrL en una dilución de 1:100 por 2 h y se lavó con PBS-T. La reacción fue revelada al agregar una solución de 3-3 diaminobenzidina y H₂O₂ en PBS.

Análisis estadísticos. Se realizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov para verificar la normalidad de la distribución de los datos, y la prueba de homoscedasticidad de Bartlett para corroborar la homogenidad de distribución de varianzas. Se efectuó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía para determinar si hubo diferencias significativas en la concentración de lectinas en el plasma entre los camarones expuestos a diferentes inmunoestimulantes y el control. Cuando se encontraron diferencias, se realizó un análisis posterior de Tukey. Los cálculos estadísticos se realizaron con el programa Statistics v9.

RESULTADOS

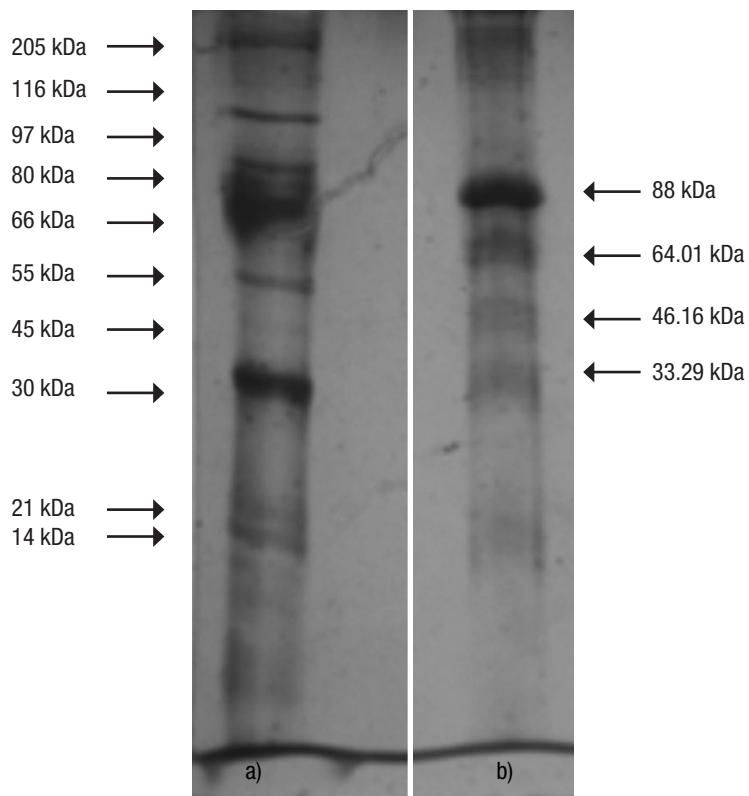
Purificación de lectina. A partir de hemolinfa de *L. vannamei* se purificó una lectina mediante cromatografía de afinidad en una columna de estroma de eritrocitos de rata. La fracción no retenida no mostró aglutinación de eritrocitos de conejo ni de rata en solución salina-calcio al 2 %. En contraparte, la fracción retenida presentó actividad hemaglutinante en eritrocitos de conejo y rata, 640 y 320 UHA (unidades hemaglutinantes por ml de muestra), respectivamente.

Se determinó el peso molecular de la lectina por electroforesis en gel de poliacrilamida con urea y teñido con plata, y se obtuvieron 4 fracciones proteicas de 80 kDa, 61 kDa, 48 kDa, y 33 kDa (Fig. 1). El suero de camarón aglutinó eritrocitos de diferentes especies, en especial eritrocitos de ratón, que fueron 8 veces más que los eritrocitos de las otras especies probadas (conejo, rata, cuyo, hámster y humano). La actividad aglutinante aumentó en presencia de CaCl₂, de eritrocitos tratados con tripisina y algunos tratados con sialidasa (conejo, hámster y humano).

La especificidad se determinó al comparar la actividad inhibitoria de 9 carbohidratos (200 mM) en la hemaglutinación de eritrocitos de conejo al 2 %. La D-glucosamina fue el mayor inhibidor de aglutinación con un 96.8%, seguido de fucosa con 87.5%, galactosa y glucosa con 75%. Los 5 monosacáridos restantes, N-acetil-glucosamina, galactosamina, N-acetyl-galactosamina, manosa y manosamina, no inhibieron la aglutinación.

Se realizó un Western blot utilizando agregados de la lectina purificada de camarón blanco y anticuerpos monocionales contra la lectina de *M. rosenbergii* a una dilución de 1:40, lo cual reveló que los anticuerpos monocionales contra la lectina de MrL reconocen 3 (80, 61 y 48 kDa) de las 4 fracciones purificadas de la lectina de *L. vannamei* (Fig. 2).

Concentración de la lectina en plasma de camarón expuesto a inmunoestimulantes. En la Figura 3 se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) en los camarones tratados con laminarina respecto



Figuras 1a-b. Electroforesis en gel de poliacrilamida con urea de lectina purificada en la columna de estroma de rata. Carril (a): marcadores moleculares. Carril (b): lectina purificada de camarón *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931).

al grupo control, a las 24 h posteriores a la última administración de los tratamientos. A las 48 h posteriores a la exposición de los inmunoestimulantes no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) respecto al control. Los juveniles expuestos a la mezcla 1 (*B. tequillensis* + *B. licheniformis*) y mezcla 2 (*B. endophyticus* + *B. endophyticus*) registraron un aumento significativo en la concentración de lectina a las 72 h respecto al grupo control. La concentración de lectina no se modificó significativamente en los juveniles tratados con la levadura *D. hansenii* respecto al grupo control (Fig. 3).

DISCUSIÓN

Los invertebrados poseen lectinas que son proteínas ampliamente distribuidas en la naturaleza y tienen la capacidad de reconocer de manera específica carbohidratos en la superficie celular, desencadenando diferentes mecanismos de defensa (Wang & Wang, 2013; Li & Xiang, 2013). Asimismo, se ha sugerido que las lectinas podrían ser los precursores funcionales de los anticuerpos en vertebrados, ya que muestran una gran especificidad por ciertos carbohidratos y porque están involucradas en el reconocimiento y eliminación de patógenos (Wei *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2014ab; Wang *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2015).

En este trabajo se utilizaron anticuerpos monoclonales contra la lectina de *M. rosenbergii* (MrL) para determinar la concentración de lectina en plasma de *L. vannamei*. Los anticuerpos monoclonales tienen una alta especificidad; sin embargo, algunos anticuerpos monoclonales de gran afinidad presentan reactividad cruzada. En una investigación realizada por Pereyra *et al.* (2009), se demostró que los anticuerpos monoclonales anti MrL presentan reactividad cruzada con proteínas presentes en la hemolinfa de *Procambarus clarkii* (Girard, 1852); *Procambarus americanus* (H. Milne-Edwards, 1837); *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) y *Pseudothelphusa americana* (Saussure, 1857). Sus resultados sugieren que los anticuerpos reconocen regiones conservadas en las moléculas de lectina de estas especies. En la inmunoelectrotransferencia se identificó que los anticuerpos pueden reconocer 3 (80, 61, 48 kDa) de las 4 fracciones de lectina purificada de *L. vannamei*, lo cual implica un reconocimiento del 75% de lectina presente en la hemolinfa. Es probable que la lectina de *M. rosenbergii* y *L. vannamei* comparten epítopes comunes, debido a que las lectinas de estos crustáceos se consideran evolutivamente bien conservadas (Pereyra *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2011; Denis *et al.*, 2016). Adicionalmente, en un estudio realizado por Pereyra *et al.* (2012), anticuerpos monoclonales anti MrL de *M. rosenbergii* detectaron dos subunidades de lectina (42.7 y 66.2 kDa) de *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868), de las 3 subunidades previamente purificadas (86.6, 42.7 y 66.2 kDa), lo cual demuestra que el anticuerpo reconoce epítopes conservados en lectinas de ambas especies.

La administración de glucanos en la dieta pueden estimular el sistema profenoloxidasa y la aglutinación de patógenos mediada por lectinas (Sivakamavalli & Vaseeharan, 2014; Sivakamavalli *et al.*, 2015), las cuales se incrementan después de un reto infeccioso en el camarón (Bae *et al.*, 2012). Pais *et al.* (2008) trataron durante 1 h vía inmersión a juveniles de *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) con β -glucanos extraídos de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen Ex E.C. Hansen) a una concentración de 0.15 mg ml⁻¹, y observaron un aumento a las

24 h de postinmersión en los niveles de hemaglutinación de eritrocitos de ratón al ser expuestos al suero del camarón. De forma similar, en este estudio los camarones expuestos vía inmersión al β -glucano del inmunoestimulante comercial (laminaria, 0.5 mg ml⁻¹) incrementaron la concentración de lectina en hemolinfa a las 24 h posteriores al tratamiento.

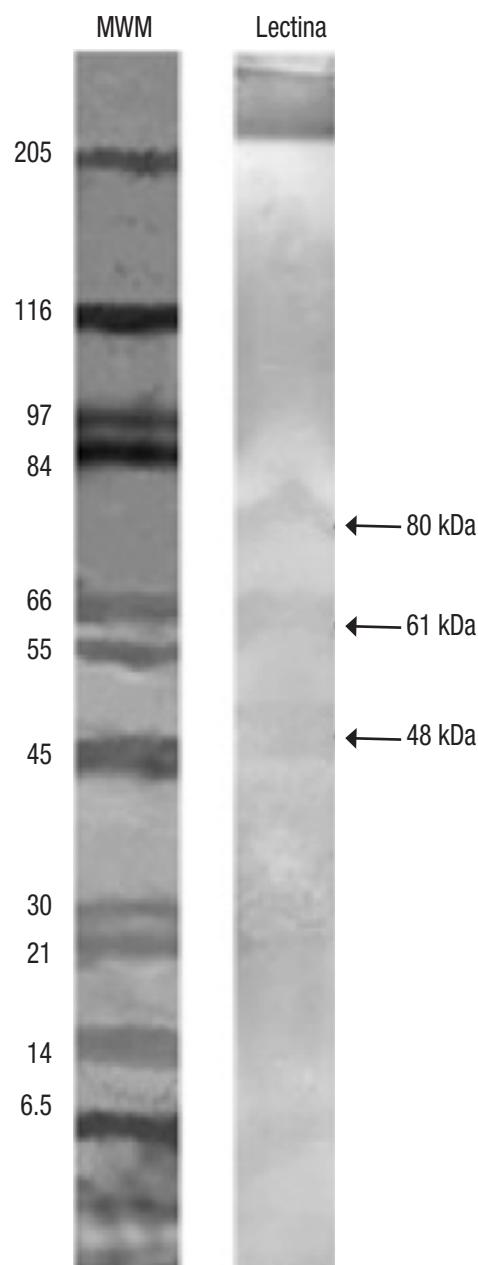


Figura 2. Western blot de lectina de camarón *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) y anticuerpos monoclonales contra MrL.

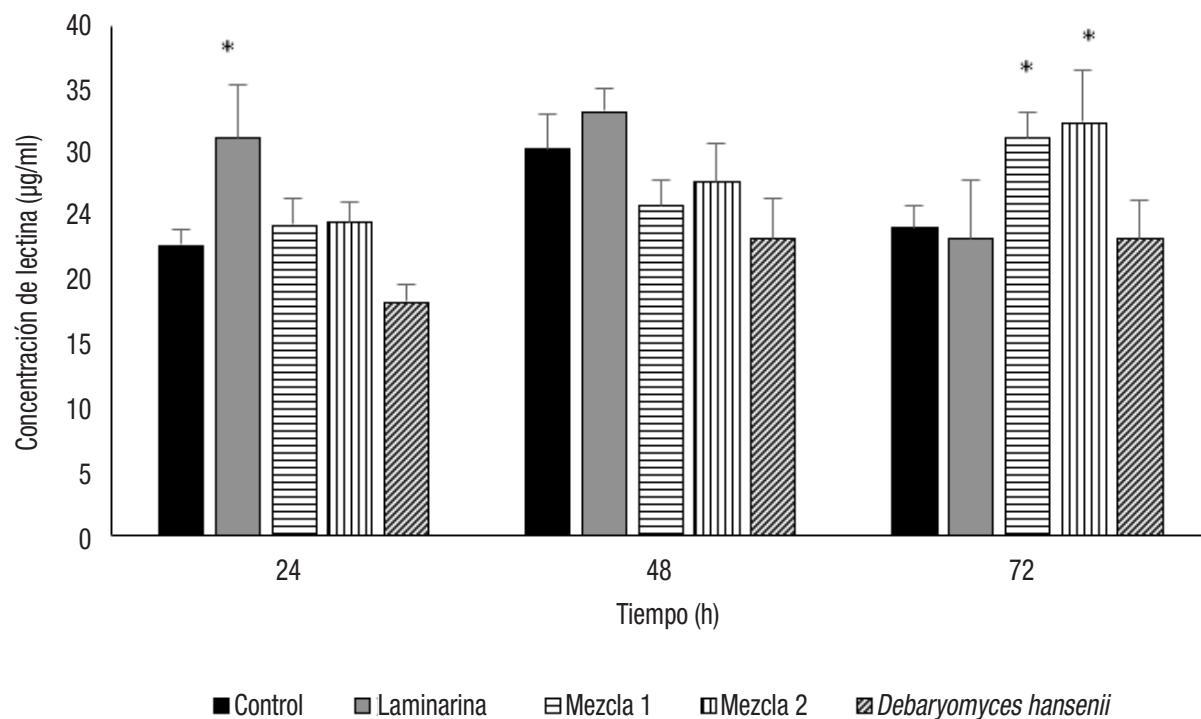


Figura 3. Concentración de lectinas en plasma de juveniles de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) durante las 72 h posteriores a la **última** aplicación de los tratamientos (día 12). Barras verticales indican desviación estándar. * Diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto al control.

En estudios previos se ha reportado la importancia en la frecuencia de administración de los inmunoestimulantes, ya sea vía inmersión o incluidos en el alimento, para que el camarón mantenga un mejor estado inmunológico durante su cultivo (Pacheco-Marges *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2016). En este estudio, la frecuencia de administración de los inmunoestimulantes se realizó cada tercer día, y se encontró que en los camarones tratados vía inmersión con laminarina se indujo un incremento en la concentración de lectinas a las 24 h posteriores a la última aplicación de los tratamientos, seguida a las 72 h por las mezclas 1 (*B. tequilensis* y *B. licheniformis*) y 2 (cepas YC3-B y C2-2 de *B. endophyticus*). Sung *et al.* (1994) demostraron que la supervivencia de *Penaeus monodon* puede incrementarse si los camarones se inmunoestimulan hasta 18 días antes de un reto con *Vibrio vulnificus*. Campa-Córdova *et al.* (2002) reportaron que no es necesario aplicar inmunoestimulantes diariamente a juveniles de *L. vannamei*, ya que una sola aplicación incrementa la respuesta inmune de los camarones durante 7 días. Campa-Córdova *et al.* (2005) utilizaron concentraciones subletales de *Vibrio penaeicida* para activar la respuesta inmune en juveniles de *L. vannamei*, y encontraron que los camarones previamente expuestos a -glucano, lipopolisacárido y fucoidán mantuvieron una respuesta inmune superior al control hasta 10 días posteriores a la aplicación de los inmunoestimulantes.

Al tratar a los camarones con *D. hansenii* (1×10^6 UFC ml⁻¹) no se detectó un incremento en la concentración de lectina respecto al grupo control, lo que sugiere como posible causa una dosis insuficiente de levadura. En este sentido, Chai *et al.* (2016) observaron que la suple-

mentación de *Bacillus* sp. a concentraciones más altas de 1×10^7 y 1×10^9 UFC ml⁻¹ aumentó la expresión del gen de la lectina tipo C en hemocitos de camarón blanco *L. vannamei*.

En este estudio se encontró que la concentración de lectina en plasma de *L. vannamei* se incrementa al exponer a los camarones a inmunoestimulantes de origen microbiano o comercial, por lo que podría ser utilizada como herramienta bioindicadora de inmunoestimulación en camarón. Se recomienda realizar más estudios con patógenos de camarón para determinar si el incremento de lectinas activado por exposición a inmunoestimulantes es suficiente para inducir resistencia a enfermedades de origen bacteriano o viral en los cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con el proyecto SEP-CONACYT (243532), Fronteras de la Ciencia (FC-2016/2820). Agradecemos a Roberto Hernández Herrera y a Pablo Monsalvo Spencer por el apoyo brindado al presente trabajo.

REFERENCIAS

- AGUNDIS, C., A. PEREYRA, R. ZENTENO, C. BRASSART, C. SIERRA, L. VAZQUEZ & E. ZENTENO. 2000. Quantification of lectin in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) hemolymph by ELISA. 2000. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 127: 165-172. DOI:10.1016/S0305-0491(00)00248-0

- ALPUCHE, J., C. AGUNDIS, C. SOLÓRZANO & A. PEREYRA A. 2005. Lectina en *L. Setiferus*: una alternativa en cultivo ante enfermedades que afectan al cultivo de camarones. *REDVET* 12: 1-12.
- ALPUCHE, J., A. PEREYRA, C. AGUNDIS, C. ROSAS, C. PASCUAL, M. C. SLOMIANNY, L. VÁZQUEZ & E. ZENTENO. 2005. Purification and characterization of a lectin from the White shrimp *Litopenaeus setiferus* (*Crustacea decapoda*) hemolymph. *Biochimica et Biophysica Acta* 1724: 86-93. DOI:10.1016/j.bbagen.2005.04.014
- AMPARYUP, P., J. SUTTHANGKUL, W. CHAROENSAPSRI & A. TASSANAKAJON. 2016. Pattern recognition protein binds to lipopolysaccharide and β -1,3-glucan and activates shrimp prophenoloxidase system. *The Journal of Biological Chemistry* 291 (20): 10949. DOI:10.1074/jbc.M111.294744
- BAE, S. H., B. R. KIM, B. J. KANG, N. TSUTSUI, T. OKUTSU, J. SHINJI, I. K. JANG, C. H. HAN & M. N. WILDER. 2012. Molecular cloning of prophenoloxidase and the effects of dietary β -glucan and rutin on immune response in hemocytes of the fleshy shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish & Shellfish Immunology* 33: 597-604. DOI:10.1016/j.fsi.2012.06.034
- BOLLAG, D. M., M. D. ROZYCKI & S. J. EDELSTEIN. 1996. Protein methods. *Wiley-Liss*. 432 p.
- BRADFORD, M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.
- CAMPA-CÓRDOVA, A. I., N. Y. HERNÁNDEZ-SAAVEDRA, R. DE PHILIPPI & F. ASCENCIO. 2002. Generation of superoxide anion and SOD activity in haemocytes and muscle of American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a response to β -glucan and sulphated polysaccharide. *Fish & Shellfish Immunology* 12: 353-366. DOI:10.1006/fsim.2001.0377
- CAMPA-CÓRDOVA, A. I., N. Y. HERNÁNDEZ-SAAVEDRA, G. AGUIRRE-GUZMÁN & F. ASCENCIO. 2005. Respuesta inmunomoduladora de la superóxido dismutasa en juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) expuestos a inmunoestimulantes. *Ciencias Marinas* 31: 661-669.
- CHAI, P. C., X. L. SONG, G. F. CHEN, H. XU & J. HUANG. 2016. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus* PC465 isolated from the gut of *Fenneropenaeus chinensis* improves the health status and resistance of *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome virus. *Fish & Shellfish Immunology* 54: 602-611. DOI:10.1016/j.fsi.2016.05.011
- CHEN, Y. Y., J. C. CHEN, Y. H. KUO, Y. C. LIN, Y. H. CHANG, H. Y. GONG & C. L. HUANG. 2016. Lipopolysaccharide and β -1,3-glucan-binding protein (LGBP) bind to seaweed polysaccharides and activate the prophenoloxidase system in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology* 55: 144-151. DOI:10.1016/j.dci.2015.10.023
- DENIS, M., K. THAYAPPAN, S. M. RAMASAMY & A. MUNUSAMY. 2016. Lectin in innate immunity of crustacea. *Austin Biology* 1 (1): 1-7.
- ITAMI, T. 2002. Promising strategies against WSSV for kuruma shrimp in Japan. *Asian Aquaculture* 24: 9-10.
- LAEMMLI, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- LI, H., Y. CHEN, M. LI, S. WANG, H. ZUO, X. XU, S. WENG, J. HE & C. LI. 2015. A C-type lectin (LvCTL4) from *Litopenaeus vannamei* is a downstream molecule of the NF- κ B signaling pathway and participates in antibacterial immune response. *Fish & Shellfish Immunology* 43: 257-263. DOI:10.1016/fsi.2014.12.024
- LI, F. & J. XIANG. 2013. Signaling pathways regulating innate immune responses in shrimp. *Fish & Shellfish Immunology* 34: 973-980. DOI:10.1026/fsi.2012.08.023
- LI, J., B. TAN, K. MAI. 2009. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 291: 35-40.
- LI, M., C. LI, C. MA, H. LI, H. ZUO, S. WENG, X. CHEN, D. ZENG, J. HE & X. XU. 2014. Identification of a C-type lectin with antiviral and antibacterial activity from pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology* 46: 231-240. DOI:10.1016/j.dci.2014.04.014
- LU, J., Z. YU, C. MU, R. LI, W. SONG & C. WANG. 2017. Characterization and functional analysis of a novel C-type lectin from the swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Fish & Shellfish Immunology* 64: 185-192. DOI:10.1016/j.fsi.2017.03.013
- LUIS-VILLASEÑOR, I., M. E. MACÍAS-RODRÍGUEZ, B. GÓMEZ-GIL, F. ASCENCIO-VALLE & A. I. CAMPA-CÓRDOVA. 2011. Beneficial effects of four *Bacillus* strains on the larval cultivation of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 321: 136-144. DOI:10.1016/j.aquaculture.2011.08.036
- LUIS-VILLASEÑOR, I., T. CASTELLANOS-CERVANTES, B. GÓMEZ-GIL, A. E. CARRILLO-GARCÍA, A. I. CAMPA-CÓRDOVA & F. ASCENCIO. 2013. Probiotics in the intestinal tract of juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*: modulation of the bacterial community. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 29: 257-265. DOI:10.1007/s11274-012-1177-0
- LUO, Z., J. ZHANG, F. LI, X. ZHANG, C. LIU & J. XIANG. 2011. Identification of a novel C-type lectin from the shrimp *Litopenaeus vannamei* and its role in defense against pathogens infection. *Chinese Journal of Oceanography and Limnology* 29 (5): 942-951. DOI: 10.1007/s00343-011-0249-6
- PACHECO-MARGES, M. R., A. I. CAMPA-CÓRDOVA, G. AGUIRRE-GUZMÁN, A. LUNA-GONZÁLEZ, M. A. GUZMÁN-MURILLO & F. ASCENCIO. 2012. Efecto de *Debaromyces hansenii* en la respuesta antioxidante de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *Revista MVZ Córdoba* 17 (1): 2820-2826.
- PAN, M. V., R. F. M. TRAFALGAR, A. E. JR. SERRANO & V. L. JR. CORRE. 2015. Immunomodulatory and growth promoting effects of peptidoglycan supplementation in Black tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius 1798. *Asian Fisheries Science* 28: 60-71.
- PAIS, R., R. KHUSHIRAMANI, I. KARUNASAGAR & I. KARUNASAGAR. 2008. Effect of immunostimulants on the haemolymph haemagglutinins of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research* 39: 1339-1345. DOI:10.1111/j.1365-2109.2008.02004.x
- PEREYRA, A., C. AGUNDIS, B. BARRERA, J. ALPUCHE, C. SIERRA, R. ZENTENO, E. ZENTENO & L. VÁZQUEZ. 2009. The use of monoclonal antibodies anti-lectin form freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan, 1879) in the recognition of protein with lectin activity in decapod's hemolymph. *Preparative Biochemistry and Biotechnology* 39: 308-322. DOI: 10.1080/10826060902953384

- PEREYRA, A., J. ALPUCHE, J. C. SAINZ, E. ZENTENO & C. AGUNDIS. 2012. Purification and partial characterization of a lectin from the prawn *Macrobrachium americanum* (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana* 85: 1253-1267.
- PURIVIROJKUL, W., N. AREECHON & P. SRISAPOOME. 2006. The effect of peptidoglycan on immune response in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). *Kasetsart Journal: Natural Scienctie* 40: 11-187.
- SARLIN, P. J. & R. PHILIP. 2011. Efficacy of marine yeasts and baker's yeast as immunostimulants in *Fenneropenaeus indicus*: A comparative study. *Aquaculture* 321: 173-178. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.08.039
- SIVAKAMAVALLI, J. & B. VASEEHARAN. 2014. Purification, characterization and functional role of lectin from green tiger shrimp *Penaeus semisulcatus*. *International Journal of Biological Macromolecules* 67: 64-70. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2014.03.008
- SIVAKAMAVALLI, J., S. K. TRIPATHI, S. K. SINGH & B. VASEEHARAN. 2015. Homology modeling, molecular dynamics, and docking studies of pattern-recognition transmembrane protein-lipopolysaccharide and β -1,3 glucan-binding protein from *Fenneropenaeus indicus*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 33: 1269-1280. DOI:10.1080/07391102.2014.943807
- SMITH, V. J. & K. SÖDERHÄLL. 1983. β -1,3 glucan activation of crustacean hemocytes *in vitro* and *in vivo*. *Biological Bulletin* 164: 299-314. DOI:10.2307/1541146
- SRITUNYALUCKSANA, K., P. SITHISARN, B. WITCHAYACHUMNARNKUL & T. W. FLEGEL. 1999. Activation of prophenoloxidase, agglutinin and antibacterial activity in haemolymph of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, by immunoestimulants. *Fish & Shellfish Immunology* 9: 21-30. DOI:10.1006/fsim.1998.0161
- SUKUMARAN, V., D. W. LOWMAN, T. P. SAJEEVAN & R. PHILIP. 2010. Marine yeast glucans confer better protection than that of baker's yeast in *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus infection. *Aquaculture Research* 41: 1799-1805. DOI:10.1111/j.1365-2109.2010.02520.x
- SUNG, H. H., G. H. KOU & L. SONG. 1994. Vibriosis resistance induced by glucan treatment in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathology* 29: 11-17. DOI:10.3147/jsfp.29.11
- TASSANAKAJON, A., SOMBOONWIWAT, K., SUPUNGUL, P. & S. TANG. 2013. Discovery of immune molecules and their crucial functions in shrimp immunity. *Fish & Shellfish Immunology* 34: 954-967. DOI:10.1016/j.fsi.2012.09.021
- TOWBIN, H., T. STAHELIN & J. GORDON. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76: 4350-4354.
- VARGAS-ALBORES, F., M. A. GUZMAN, J. L. OCHOA. 1993. An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). 1993. *Comparative Biochemistry and Physiology* 106A: 299-303.
- WANG, X. W. & J. X. WANG. 2013. Diversity and multiple functions of lectins in shrimp immunity. *Developmental & Comparative Immunology* 39: 27-38. DOI:10.1016/j.dci.2012.04.009
- WANG, X. W., J. D. XU, X. F. ZHAO, G. R. VASTA & J. X. WANG. 2014. A shrimp C-type lectin inhibits proliferation of the hemolymph microbiota by maintaining the expression of antimicrobial peptides. *Journal of Biological Chemistry* 289: 11779-11790. DOI:10.1074/jbc.M114.552307
- WEI, X., X. LIU, J. YANG, J. FANG, H. QIAO, Y. ZHANG & J. YANG. 2012. Two C-type lectins from shrimp *Litopenaeus vannamei* that might be involved in immune response against bacteria and virus. *Fish & Shellfish Immunology* 32: 132-140. DOI:10.1016/j.fsi.2011.11.001
- WILSON, W., D. LOWMAN, S. P. ANTONY, J. PUTHUMANNA, I. S. BRIGHT SINGH & R. PHILIP. 2015. Immune gene expression profile of *Penaeus monodon* in response to marine yeast glucan application and white spot syndrome virus challenge. *Fish & Shellfish Immunology* 43: 346-56. DOI:10.1016/j.fsi.2014.12.032
- XU, Y. H., W. J. BI, X. W. WANG, Y. R. ZHAO, X. F. ZHAO & J. X. WANG. 2014a. Two novel C-type lectins with a low-density lipoprotein receptor class A domain have antiviral function in the shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Developmental & Comparative Immunology* 42: 323-332.
- XU, S., L. WANG, X. W. WANG, Y. R. ZHAO, W. J. BI, X. F. ZHAO & J. X. WANG. 2014b. L-Type lectin from the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* promotes hemocyte phagocytosis. *Developmental & Comparative Immunology* 44: 397-405. DOI:10.1016/j.dci.2014.01.016
- ZHANG, Q., B. TAN, K. MAI, W. ZHANG, H. MA, Q. AI, X. WANG & Z. LIUFU. 2011. Dietary administration of *Bacillus* (*B. licheniformis* and *B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp, *Penaeus japonicus* (Decapoda: Penaeidae). *Aquaculture Research* 42: 943-952. DOI:10.1111/j.1365-2109.2010.02677.x
- ZHAO, H. X., J. M. CAO, A. L. WANG, Z. Y. DU, C. X. YE, Y. H. HUANG, H. B. LAN, T. T. ZHOU & L. G. L. LI. 2012. Effect of long-term administration of dietary B 1,3 glucan on growth, physiological, and immune responses in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture International* 20: 145-158. DOI:10.1007/s10499-011-9448-6

Fecundidad en góndadas maduras de *Haliotis fulgens* y *Haliotis corrugata* (Vetigastropoda)

Fecundity in ripe gonad of *Haliotis fulgens* and *Haliotis corrugata* (Vetigastropoda)

Nurenkaya Vélez-Arellano¹®, Rosa Salgado García³®, Federico Andrés García-Domínguez^{1,2*}®, Daniel Bernardo Lluch-Cota³®, María Teresa Sicard³® y José Luis Gutiérrez-González⁴

Recibido: 17 de marzo de 2017.

Aceptado: 10 de octubre de 2018.

Publicado: 14 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: De acuerdo con su estimación, el término fecundidad en *Haliotis* spp. se clasifica como fecundidad absoluta (número de ovocitos maduros presentes en la góndada) y como fecundidad potencial (número total de ovocitos presentes en la góndada). En México, son pocos los trabajos que estiman la fecundidad en *Haliotis*, y los que se han realizado, han utilizado góndadas en diferentes fases de desarrollo, por lo que se han obtenido valores muy diferentes o sobreestimados, por ejemplo, valores que van desde 80,000 a 22 millones de ovocitos en una góndada. **Objetivos:** Estimar la fecundidad de *Haliotis fulgens* (abulón azul) y *Haliotis corrugata* (abulón amarillo) mediante góndadas maduras y un contador de partículas (Multisizer 3) para el conteo selectivo de ovocitos maduros. **Métodos:** Entre octubre de 2011 y febrero de 2013, se recolectaron mensualmente 30 organismos adultos de cada especie en dos localidades de la costa occidental de Baja California Sur, México (La Bocana y Bahía Tortugas). Se identificaron las hembras en fase de madurez por medio de un análisis histológico, y para obtener el número de ovocitos por gramo de peso húmedo, se realizaron por triplicado conteos de ovocitos en un contador de partículas, a una solución de 4 g de ovocitos (peso húmedo) diluidos en 50 mL de agua de mar marina filtrada a 1 µm. La fecundidad absoluta se calculó multiplicando el peso húmedo total de la góndada por el número de ovocitos maduros promedio presentes en un gramo de ovocitos. **Resultados:** En La Bocana se encontró que la fecundidad absoluta fue de 2×10^6 ovocitos en *H. corrugata* y en *H. fulgens*, mientras que en Bahía Tortugas fue de 4×10^6 ovocitos en *H. fulgens*. **Conclusiones:** Se sugiere que la estimación de la fecundidad absoluta en especies con desoves parciales, como *H. fulgens* y *H. corrugata*, se debe realizar en todas las hembras, sin importar el grado de desarrollo gonádico; sin embargo, es recomendable considerar sólo los ovocitos maduros como un estimador de la fecundidad absoluta. Por lo tanto, la utilización de un aparato que cuente y mida los ovocitos maduros, como es un contador de partículas, facilita y garantiza una buena aproximación en la estimación de la fecundidad.

Palabras clave: gastrópodos, abulón azul, abulón amarillo, ovocito, reproducción

*Author for correspondence:
fdoming@ipn.mx

To cite as:

Vélez-Arellano N., R. Salgado García, F. A. García-Domínguez, D. B. Lluch-Cota, M. T. Sicard y J. L. Gutiérrez-González. 2018. Fecundidad en góndadas maduras de *Haliotis fulgens* y *Haliotis corrugata* (Vetigastropoda). *Hidrobiológica* 28 (3): 295-300.

DOI:

ABSTRACT

Background: The term fecundity in abalone is defined according to an estimate of its absolute fecundity, which is the number of mature oocytes present in the gonad, or as potential fecundity, i.e., the total number of oocytes present in the gonad. In Mexico, few studies have estimated the fecundity of mollusks and these have been performed on gonads in different phases of gonadal development, obtaining values that are very different or overestimated, for example, values ranging from 80000 to 22 million oocytes in a gonad. **Goals:** Estimate the fecundity of *Haliotis fulgens* (blue abalone) and *Haliotis corrugata* (yellow abalone), using mature gonads and a particle counter (Multisizer 3) to count only mature oocytes. **Methods:** Each month from October 2011 to February 2013, 30 adult organisms of each species were collected in two localities of Baja California Sur, Mexico (La Bocana and Bahía Tortugas). A histological analysis identified those that were mature females. To obtain the number of eggs per gram, triplicate oocyte counts were performed in a coulter counter Multisizer 3, in a solution of 4 g wet weight of mature oocytes diluted to 50 mL of filtered seawater (µm). Absolute fecundity was calculated by multiplying the total weight of the gonad by the number of mature

oocytes present in one gram of oocytes. **Results:** The fecundity in La Bocana was found to be 2×10^6 eggs in *H. corrugata* and *H. fulgens*, while in Bahía Tortugas it was 4×10^6 eggs in *H. fulgens*. **Conclusions:** This study suggests that estimating absolute fecundity in species with partial spawning, such as *H. fulgens* and *H. corrugata*, should be performed on all females regardless of the degree of gonadal development. However, only mature oocytes should be considered as an indicator of absolute fecundity. Therefore, the use of an apparatus that counts and measures mature oocytes, such as a particle counter, facilitates and guarantees a good estimate of fecundity.

Keywords: Gastropods, *Haliotis fulgens*, *Haliotis corrugata*, oocyte, reproduction

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la pesca de *Haliotis* spp. ha declinado en todo el mundo, mientras que el cultivo de estos gastrópodos ha aumentado de manera significativa (Gordon & Cook, 2013). Actualmente, se han implementado programas de cultivo de varias especies, para lo cual es esencial el control efectivo de la reproducción (Morse, 1984), que incluye, entre otras cosas, el mejoramiento en la calidad de los gametos y la estimación de la fecundidad. En *Haliotis* spp. esta estimación ha sido definida como fecundidad absoluta, equivalente al número total de ovocitos maduros presentes en la gónada (Litayay & De Silva, 2003; Bilbao et al., 2010), y como fecundidad potencial, equivalente al número total de ovocitos presentes en la gónada (Guzmán del Prío et al., 2001). Ambos son parámetros necesarios para evaluar la tasa de fertilización, la proporción óptima de ovocitos y espermatoides, la tasa de reclutamiento y la tasa de eclosión, así como el efecto de la dieta y de las variables ambientales en la calidad de los desove y en la capacidad reproductiva de los organismos (Withham et al., 2009).

En México, el abulón azul, *Haliotis fulgens* Philippi, 1845, y el abulón amarillo, *Haliotis corrugata* W. Wood, 1828, son las especies más importantes para la pesquería (Guzmán-del Prío, 1992; Arreguin-Sánchez et al., 2006). Como en todo el mundo, su pesca ha colapsado sustancialmente a partir del siglo pasado (Guzmán-del Prío, 1992). La información relacionada con su fecundidad es importante debido a que su conocimiento puede contribuir al mejor desarrollo del cultivo de estas especies; sin embargo, sólo se ha realizado un estudio en el abulón amarillo, *H. corrugata* (Ortiz-Quintanilla et al., 1987), en el cual se encontraron diferencias en la fecundidad, correlacionadas a la diferencia de años, atribuida por los autores al grado de madurez de los organismos. En cuanto a *H. fulgens*, Guzmán del Prío et al. (2001) reportaron la fecundidad en Bahía Tortugas y Ortiz-Quintanilla et al. (1987) en isla Cedros. Cabe señalar que en estos trabajos se utilizaron organismos en todas las fases de madurez gonádica, las cuales se determinaron mediante un estudio del índice gonádico, lo cual indica que sus resultados únicamente estiman la fecundidad potencial.

Los métodos convencionales para estimar la fecundidad de especies marinas incluyen análisis histológicos, gravimétricos y volumétricos con una gran variabilidad de resultados para la misma especie, que además de subestimar o sobreestimar los resultados, no permiten comparar entre autores. Los contadores de partículas y células en dilución son equipos semiautomáticos que permiten estimar el número y el tamaño de partículas y células en suspensión de manera confiable y rápida, por lo que en las últimas décadas han sido ampliamente utilizados

para el monitoreo del crecimiento de cultivos celulares (bacterias, microalgas, etc.), así como para el conteo de células sanguíneas. Estos equipos ya se ha utilizado en el conteo de huevos expulsados en condiciones de laboratorio para estudios de fecundidad, especialmente en una especie de bivalvo (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771), lo cual comprueba que la fecundidad estimada por ese método está en el rango de la fecundidad estimada por otros (Sprung, 1991).

Este trabajo es el primero que utiliza un contador de células y partículas para determinar el número y el tamaño de ovocitos en *Haliotis*, lo cual elimina los errores causados por un observador. Además, en el caso de especies que presentan desarrollo gonádico continuo y desovas parciales, permite contar y medir las células, y así estimar tanto la fecundidad absoluta, como la fecundidad potencial. Por consiguiente, el objetivo del presente estudio fue conocer la fecundidad absoluta y potencial de *H. fulgens* y *H. corrugata* en hembras con gónadas en fase de madurez identificadas mediante un análisis histológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos mensuales, de octubre de 2011 a febrero de 2013, en dos localidades de la costa noroeste del Pacífico mexicano, La Bocana, Baja California Sur (BCS) (26.8° N, 113.73° O) y Bahía Tortugas BCS (27.67° N, 114.95° O). En cada sitio de muestreo se recolectaron 30 organismos adultos de cada especie, de los que se registró la longitud, la masa total y se extrajo el complejo hepatogonadal, el cual se fijó durante 48 h en formaldehído al 10 % preparado con agua de mar. Posteriormente, se disectó el complejo gónada-hepatopáncreas y se obtuvo el peso húmedo de la gónada con una balanza analítica. Se tomó una muestra de 1 cm de grosor de la porción central de la gónada y fue procesada con técnicas histológicas convencionales, que incluyen la deshidratación con etanol, la aclaración del tejido con CitriSolv y la inclusión en parafina. Los cortes histológicos, de 5 μm de grosor, se tiñeron con hematoxilina-eosina (Humason, 1979) y se montaron con resina sintética para su observación en el microscopio. Se utilizó el criterio de Vélez-Arellano et al. (2015) para determinar las fases de desarrollo gonádico de ambas especies, el cual describe sus características histológicas. El tejido gonádico de las hembras maduras se lavó en agua marina filtrada (1 μm), y con pipetas de vidrio se recolectaron muestras de los ovocitos desprendidos de las trabéculas para colocarlos en tubos eppendorf de 1.5 mL por triplicado. El exceso de agua de las muestras de ovocitos se eliminó por decantación y por absorción con papel absorbente. El peso húmedo de las muestras (0.08 g) se determinó en una balanza analítica. La tasa de dilución óptima de las muestras se estableció con un modelo de regresión lineal ($R^2 = 0.9376$), a partir de diluciones seriales (por triplicado) preparadas con base en una solución de ovocitos de concentración conocida (0.08 g/mL), utilizando como diluyente agua marina filtrada (1 μm).

Para cada organismo se prepararon (por triplicado) muestras de ovocitos (200 mL) a una tasa de dilución óptima (0.005 g/mL) con la finalidad de realizar el conteo de ovocitos en el contador de partículas (Multisizer 3) con apertura de 560 μm . El conteo de los ovocitos se realizó en agitación constante para evitar su sedimentación, tal como en la preparación de las muestras en agua marina filtrada.

El flujo de la muestra en el contador de partículas se estableció midiendo el volumen de diluyente desplazado a través de la apertura (560 μm) por unidad de tiempo (min). El flujo resultante fue considerado

para estimar la fecundidad absoluta (concentración de ovocitos, σ_T), de acuerdo con las instrucciones del fabricante del equipo, mediante la siguiente fórmula:

$$\sigma_T (\text{cel}^{-1} \text{ ml}^{-1}) = \frac{\sigma(V_T)}{f}$$

En donde σ representa el número de ovocitos en la muestra, V_T es igual al volumen total de la muestra (mL) y f , el flujo (mL/min). El número de ovocitos por unidad de peso húmedo (N) se calculó con base en la concentración de ovocitos calculada (σ_T) y el peso húmedo de la submuestra de ovocitos (0.005 g).

$$N (\text{cel}^{-1} \text{ g}^{-1}) = \frac{\sigma_T (\text{lg})}{g}$$

En donde g representa el peso húmedo de ovocitos de la muestra (en gramos).

La fecundidad (F) se definió como el número total de ovocitos de cada organismo y se estimó con base en el peso húmedo total de la góndada (G) y en el número de ovocitos por unidad de peso (N), como se muestra en la siguiente fórmula:

$$F = (N) G$$

Tabla 1. Fecundidad potencial y fecundidad absoluta (10^6) por organismo de *Haliotis fulgens* Philippi, 1845, en Bahía Tortugas y La Bocana. BCS, México, entre agosto de 2012 y enero de 2013, y fecundidad potencial absoluta de *Haliotis corrugata* W. Wood, 1828, en La Bocana, BCS, México, en agosto de 2012.

Localidad	Fecha	FP ±Des	FA ±Des	PG (g)	Long (mm)	PO (g)
La Bocana	08/2012	11.81 ± 1.33	4.90 ± 0.12	37.8	175	690.5
<i>H. fulgens</i>						
<i>H. fulgens</i>	08/2012	4.11 ± 0.27	1.78 ± 0.17	14.2	160	495.0
<i>H. fulgens</i>	08/2012	2.24 ± 0.22	1.63 ± 0.04	11.9	168	516.9
<i>H. fulgens</i>	08/2012	1.95 ± 0.99	1.67 ± 0.13	11.9	174	608.0
<i>H. fulgens</i>	01/2013		2.28 ± 0.22	16.9	166	443.7
<i>H. fulgens</i>	01/2013	4.82 ± 2.03	2.34 ± 0.62	12.7	173	498.4
Bahía Tortugas						
<i>H. fulgens</i>	01/2013	17.68 ± 0.56	6.30 ± 0.47	37.1	128	207.2
<i>H. fulgens</i>	01/2013	12.14 ± 1.2	5.06 ± 0.33	38.4	166	540.4
<i>H. fulgens</i>	01/2013	6.67 ± 1.31	2.5 ± 0.11	14.7	143	283.7
<i>H. fulgens</i>	01/2013	6.96 ± 1.72	4.07 ± 0.27	25.5	163	439.7
La Bocana						
<i>H. corrugata</i>	08/2012	4.93 ± 1.2	1.99 ± 0.3	18.5	106	140.8
<i>H. corrugata</i>	08/2012	4.82 ± 0.32	2.19 ± 0.1	16.3	99	94

Fecundidad potencial (FP), fecundidad absoluta (FA), Desviación estándar (±Desv), masa de la góndada (PG), longitud total del organismo (Long), masa del tejido húmedo de cada organismo (PO).

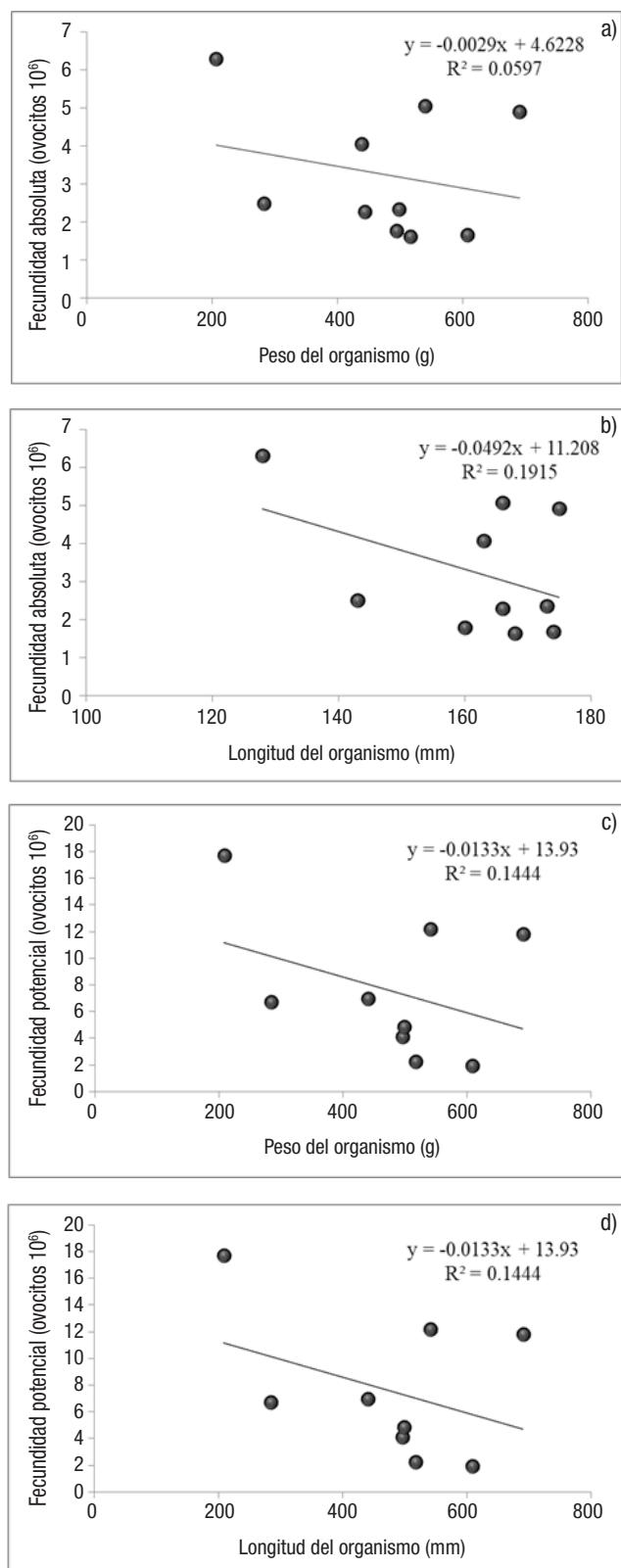
Para estimar la fecundidad absoluta se consideró el número total de ovocitos maduros de cada muestra (diámetro entre 150 y 250 μm : Belmar-Pérez y Guzmán del Proó, 1991), y para estimar la fecundidad potencial se consideró el número total de ovocitos de cada muestra (diámetro entre 60 y 250 μm).

Análisis estadístico. El tratamiento de los datos se realizó entre especies, zonas y meses, y sus diferencias se evaluaron con un análisis de comparación de Kolmogorov-Smirnov ($p < 0.05$) (Zar, 2010), por medio del programa Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Estados Unidos). Para analizar la posible relación entre la fecundidad absoluta y la fecundidad potencial con el peso del organismo y la longitud, se buscó la curva de mejor ajuste con el paquete estadístico Curve expert versión 1.3 (2008).

RESULTADOS

Del total de la muestra de La Bocana, sólo se encontraron cuatro hembras maduras de abulón azul y dos de abulón amarillo en agosto de 2012 y dos hembras maduras de abulón azul en enero de 2013. En Bahía Tortugas se identificaron cuatro hembras maduras de abulón azul en enero de 2013.

La fecundidad absoluta y potencial de *H. fulgens* y *H. corrugata* en La Bocana en agosto de 2012 se muestra en la Tabla 1, en la que destaca una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la fecundidad potencial y la fecundidad absoluta, y donde también se observa que en promedio



Figuras 1a-d. Relación de la fecundidad absoluta (a-b) y fecundidad potencial (c-d) con el peso (a-c) y la longitud (b-d) de *Haliotis fulgens* Philippi, 1845, en La Bocana y Bahía Tortugas, BCS, México.

la fecundidad no varía entre especies; en *H. fulgens* fue de 5.02×10^6 huevos en la góndola, mientras que en *H. corrugata* fue de 4.87×10^6 huevos en la góndola. La fecundidad absoluta y potencial de *H. fulgens* en Bahía Tortugas y La Bocana en enero de 2013 se muestra en la Tabla 1, donde se observa una diferencia de la fecundidad absoluta entre zonas de estudio; en Bahía Tortugas fue de 10.86×10^6 , mientras que en La Bocana fue de 4.82×10^6 . En el presente trabajo no se encontró una relación estadísticamente significativa entre la fecundidad (absoluta y potencial), y la longitud o el peso del organismo. Sin embargo, se observa una tendencia negativa entre el peso, la talla de los organismos y la fecundidad (Figs. 1a-d).

DISCUSIÓN

Durante los meses de muestreo no fue posible capturar un número mayor de hembras en estado de madurez, debido a que estas especies presentan desoves parciales continuos y pocos organismos alcanzan el estadio de madurez, tal como lo informaron Vélez-Arellano *et al.* (2016), quienes además encontraron que *H. fulgens* presenta los estadios de desarrollo y desove durante todo el año. Esto se presenta en otras especies como *Haliotis tuberculata coccinea* Reeve, 1846, en la que la góndola presenta distintos grados de madurez de los ovocitos (Bilbao *et al.*, 2010). El cálculo de fecundidad absoluta se ha realizado en otros trabajos, como el de Bilbao *et al.* (2010), quienes contaron únicamente ovocitos maduros para estimarla. En el presente trabajo, la fecundidad absoluta en *H. fulgens* varió entre las zonas de estudio: en Bahía Tortugas fue de 2.49×10^6 ovocitos y en La Bocana, de 2.31×10^6 ovocitos, posiblemente debido a las diferencias en las condiciones ambientales y a la presión pesquera, pues se sabe que la gran variabilidad en la frecuencia de los desoves entre poblaciones de la misma especie, o la de un mismo organismo a lo largo de uno o varios ciclos anuales, puede atribuirse a factores biológicos, ambientales y antropogénicos (Ault, 1985; Giorgi & De Martini, 1977; Molina, 1983; Ortiz-Quintanilla *et al.*, 1987). En este sentido, se ha reportado que la fecundidad para esta misma especie en isla Cedros, durante distintos meses y años, varió de 5.16×10^6 ovocitos, en junio de 1982, a 7.24×10^6 ovocitos, en septiembre de 1984, y a 3.34×10^6 ovocitos, en junio de 1985 (Ortiz-Quintanilla *et al.*, 1987). No obstante, en el presente trabajo la fecundidad absoluta permaneció invariable entre meses, pues tanto en agosto como en enero la fecundidad absoluta fue de 2×10^6 ovocitos. Para *H. corrugata*, Ortiz-Quintanilla *et al.* (1987) reportaron variaciones en la fecundidad, de 10.4×10^6 en junio de 1982 a 1.34×10^6 en junio de 1985, diferencia que atribuyen al grado de madurez de los organismos, y que también difieren de los valores de la fecundidad reportada en el presente trabajo, puesto que sólo se consideraron hembras maduras para las dos zonas de pesca estudiadas. Una explicación verosímil para entender estas variaciones en la fecundidad podría ser el cambio ambiental, como el causado por El Niño en 1997 en Bahía Tortugas, en donde, tras realizarse un estudio en *H. fulgens*, se reportó una fecundidad de 0.99×10^6 a 22.34×10^6 ovocitos (Guzmán del Prío *et al.*, 2001). Al respecto, Kasyanov (2001) menciona que el nivel de máxima fecundidad de una especie se presenta en las condiciones de hábitat más favorables, es decir, cuando los organismos gastan la energía máxima disponible para la reproducción, mientras que Ault (1985) demostró que la fecundidad de organismos silvestres recién capturados de *Haliotis rufescens* Swainson, 1822, fue tres veces menor que en organismos de talla similar mantenidos en el laboratorio en condiciones

óptimas entre 70 y 90 días. Asimismo, en enero de 1973 Poore (1973) reportó que *Haliotis australis* Gmelin, 1791, presentó una fecundidad entre 0.046×10^6 y 2.91×10^6 ovocitos, en ejemplares cuya longitud varió de 62 a 91 mm; menor a la observada en julio de 1968, cuando fue de 0.19 a 1.38×10^6 ovocitos, a longitudes de 67 a 87 mm. El autor lo atribuye a la etapa del ciclo reproductivo en la que se encontraban los organismos. Cabe señalar que para estimar la fecundidad, tanto Poore (1973), como Ortiz-Quintanilla (1987) contaron todos los ovocitos presentes en la muestra, es decir, desde ovocitos previtelogénicos hasta ovocitos maduros, donde los organismos utilizados se hallaban en diferentes grados de madurez gonádica. En el presente trabajo no se observaron diferencias en la fecundidad absoluta de *H. fulgens* de la misma zona, en distintas temporadas de muestreo, debido a que los organismos analizados se encontraban en la misma etapa reproductiva (madurez) y únicamente se contaron los ovocitos maduros. Sin embargo, sí se observó una diferencia en la fecundidad potencial de *H. fulgens* entre zonas y en la misma zona, que varió de 17 a 6 millones en Bahía Tortugas y de 11 a 1.9 millones en La Bocana, posiblemente porque se contaron todos los ovocitos presentes en la góndada.

De acuerdo con un análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno, se determinó que los abulones de Bahía Tortugas y de La Bocana presentan diferentes dietas (Vega-García *et al.*, 2016), además existe una clara diferenciación entre la especie de macroalga dominante en cada zona, cuya preponderancia en Bahía Tortugas era de *Macrocytis pyrifera* (Linnaeus) C. Agardh y de *Eisenia arborea* J. E. Areschoug, en La Bocana (Vega-García, 2016), por lo que la diferencia en la fecundidad absoluta entre zonas de estudio puede deberse a las condiciones de hábitat y alimentación; sin embargo, la carencia de estudios ecológicos en estas zonas no permite saber cuál de ellas tiene las mejores condiciones para la reproducción.

Estudios previos han encontrado una relación significativa entre la fecundidad y el peso o tamaño del organismo (Poore, 1973; Molina, 1983; Guzmán-del Prío, 2001; Bilbao *et al.*, 2010). En cambio, en el presente trabajo no se encontró relación significativa entre la fecundidad absoluta o potencial y el peso o tamaño del organismo, pero si se observa una tendencia que demuestra que a menor peso y talla, mayor número de huevos en la góndada, donde, posiblemente, la significancia estadística se deba al tamaño de muestra y a la dispersión de los datos.

Los resultados obtenidos indican que para conocer la fecundidad absoluta de *H. fulgens* y de *H. corrugata* se deben analizar las góndadas de todas las hembras sin importar el grado de desarrollo gonádico, pero únicamente se deben considerar los ovocitos maduros, para así tener un tamaño de muestra que permita obtener una relación con el tamaño o masa del organismo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen por el apoyo recibido de los proyectos SAGARPA-CONACyT-01-163322, coordinado por el CRIP-La Paz, SIP20121218 del CICIMAR-IPN y al POA-Bentónicos 2012, 2013 y 2014 del CRIP-La Paz. A las sociedades cooperativas de producción pesquera Bahía Tortugas, Emancipación, California de San Ignacio y Progreso por la recolecta de muestras. A los investigadores del CRIP-La Paz (Carlos Monroy, Eduardo Quiroz, Mauro Guadarrama y Verónica Fernández) por el procesamiento del material biológico, y a Cheryl Butner por la traducción.

REFERENCIAS

- ARREGUÍN-SÁNCHEZ, F., L. BELÉNDEZ-MORENO, I. M. GÓMEZ-HUMARÁN, R. SOLANA-SANOSRES & C. RANGEL-DÁVALOS. 2006. *Sustentabilidad y pesca responsable en México: evaluación y manejo*. Sagarpa. México. 560 p.
- AULT, J. S. 1985. Some quantitative aspects of reproduction and growth of the red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. *Journal of the World Mariculture Society* 16: 398-425. DOI: [10.1111/j.1749-7345.1985.tb00221.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1985.tb00221.x)
- BELMAR-PÉREZ, J. & S. A. GUZMÁN-DEL PRÓO. 1991. Madurez sexual y ciclo gonádico de *Haliotis fulgens* y *Astrea undosa* en Bahía Tortugas B.C.S. (1986-1988). In: Guzmán del Prío, S. (ed). *Memorias del Taller México-Australia sobre reclutamiento de recursos bentónicos de Baja California*. Sepesca-IPN, La Paz, México, pp. 121-129.
- BILBAO, A., V. TUSET, M. VIERA, G. COURTOIS DE VICOSE, H. FERNÁNDEZ-PALACIOS, R. HAROUN & M. IZQUIERDO. 2010. Reproduction, fecundity and growth of abalone (*Haliotis tuberculata coccinea*, Reeve 1846) in the Canary Islands. *Journal of Shellfish Research* 29 (4): 959-967. DOI: [10.2983/035.029.0430](https://doi.org/10.2983/035.029.0430)
- GIORGIO, A. E. & J. D. DE MARTINI. 1977. A study of the reproductive biology of the red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson, near Mendocino, California. *California Fish and Game* 63 (2): 80-94.
- GORDON, H. R. & P. A. COOK. 2013. World abalone supply, markets, and pricing: 2011 update. *Journal of Shellfish Research* 32 (1): 5-8. DOI: [10.2983/35.032.0102](https://doi.org/10.2983/35.032.0102)
- GUZMÁN-DEL PRÓO, S. A. 1992. A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. In: Shepherd, S. A., M. J. Tegner & S. A. Guzmán-del Prío (eds). *Abalone of the World: Their Biology, Fisheries and Culture*. Blackwell, Oxford, pp. 341-360.
- GUZMÁN-DEL PRÓO, S. A., J. CARRILLO-LAGUNA, J. BELMAR-PÉREZ & E. MARTÍNEZ-VILLEDA. 2001. Fecundidad de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en Bahía Tortugas, BCS, en El Niño de 1997. Informe Técnico. ENCB-IPN. México. 17 p.
- HUMASON, G.L. 1979. *Animal Tissue Techniques*. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 661 p.
- KASYANOV, V. L. 2001. *Reproductive Strategy of Marine Bivalves and Echinoderms*. Science Publishers, Enfield. USA. 229 p.
- LITAAY, M. & S. S. DE SILVA. 2003. Spawning season, fecundity and proximate composition of the gonads of wild-caught blacklip abalone (*Haliotis rubra*) from Port Fairy waters, south eastern Australia. *Aquatic Living Resources* 16: 353-361. DOI: [10.1016/s0990-7440\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/s0990-7440(03)00067-6)
- MOLINA, M. J. 1983. Estimaciones de fecundidad en *Haliotis fulgens* de El Bajo, Bahía Rosario, Baja California. *Ciencias Pesqueras* 4: 77-95.
- MORSE, D. E. 1984. Biochemical and genetic engineering for improved production of abalones and other valuable molluscs. *Aquaculture* 39 (1-4): 263-282. DOI: [10.1016/0044-8486\(84\)90271-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90271-0)
- ORTIZ-QUINTANILLA, M., A. R. GARCÍA-JUÁREZ & F. SALGADO-HERNÁNDEZ. 1987. Madurez, índice gonadal y fecundidad en dos especies de abulón *Haliotis* spp. (Mollusca: Gastropoda) de la Isla de Cedros, Baja

- California. VII Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada, B.C., México. pp. 86-92.
- POORE, G. C. B. 1973. Ecology of New Zealand abalones, *Haliotis* species (Mollusca: Gastropoda). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 7 (1-2): 67-84. DOI: [10.1080/00288330.1972.9515445](https://doi.org/10.1080/00288330.1972.9515445)
- SPRUNG, M. 1991. Costs of reproduction: a study on metabolic requirements of the gonads and fecundity of the bivalve *Dreissena polymorpha*. *Malacologia* 33 (1-2): 63-70.
- VEGA-GARCÍA, D. 2016. Cambios históricos en las poblaciones de abulón azul y amarillo en la península de Baja California. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, México. 70 p.
- VEGA-GARCÍA, P. D., A. PIÑÓN-GIMATE, N. VÉLEZ-ARELLANO & S. E. LLUCH-COTA. 2016. Differences in diet of green (*Haliotis fulgens*) and pink (*Haliotis corrugata*) wild abalone along the Pacific coast of the Baja California Peninsula, using stable isotope analyses. *Journal of Shellfish Research* 34 (3): 879-884. DOI: [10.2983/035.034.0317](https://doi.org/10.2983/035.034.0317)
- VÉLEZ-ARELLANO, N., F. GARCÍA-DOMÍNGUEZ, D. B. LLUCH-COTA, J. L. GUTIÉRREZ-GONZÁLEZ & R. SÁNCHEZ-CÁRDENAS. 2015. Histological validation of morphochromatically-defined gonadal maturation stages of green abalone (*Haliotis fulgens*) Philippi, 1845 and pink abalone (*Haliotis corrugata*) Wood, 1828. *International Journal of Morphology* 33 (3): 1054-1059. DOI: [10.4067/s0717-95022015000300039](https://doi.org/10.4067/s0717-95022015000300039)
- VÉLEZ-ARELLANO, N., F. GARCÍA-DOMÍNGUEZ, D. B. LLUCH-COTA, J. L. GUTIÉRREZ-GONZÁLEZ, O. E. HOLGUIN-QUINONES & M. RAMÍREZ-RODRÍGUEZ. 2016. Biochemical changes during the reproductive cycle of *Haliotis fulgens* (Philippi, 1845) (Gastropoda; Archaeogastropoda) on the Baja California Sur West Coast. *Journal of Shellfish Research* 35 (1): 199-206. DOI: [10.2983/035.035.0121](https://doi.org/10.2983/035.035.0121)
- WITTHAMES, P. R., A. THORSEN, H. MURUA, F. SABORIDO-REY, L. N. GREENWOOD, R. DOMINGUEZ, M. KORTA & O. S. KJESBU. 2009. Advances in methods for determining fecundity: application of the new methods to some marine fishes. *Fishery Bulletin* 107: 148-164.
- ZAR, J. H. 2010. *Biostatistical analysis*. 5th edition, Prentice Hall Inc, New Jersey, 944 p.

Patrones de crecimiento y proporción de sexos de la jaiba *Callinectes bellicosus* (Decapoda: Portunidae)

Growth patterns and sex ratio of the crab *Callinectes bellicosus* (Decapoda: Portunidae)

Ruth Escamilla-Montes¹®, Genaro Diarte-Plata^{1*}®, César Arturo Ruiz-Verdugo², Salvador Granados-Alcantar³, Antonio Luna-González¹®, Horacio Vázquez-López⁴®, Jesús Arturo Fierro-Coronado¹®, Gustavo De la Cruz-Agüero⁵®
y Marcial Trinidad Villalejo-Fuerte⁵®

Recibido: 08 de noviembre de 2016.

Aceptado: 28 de noviembre de 2018.

Publicado: 15 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: El conocimiento del crecimiento en cualquier especie es relevante debido a que proporciona información de la dinámica local de la población. **Objetivos:** Evaluar el crecimiento, la estructura de tallas, la morfometría y la proporción de sexos de las jaibas *C. bellicosus* capturadas en la laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa, México. **Métodos:** Durante el periodo de marzo de 2012 a marzo de 2013 se evaluaron las distribuciones de frecuencias de tallas y se aplicó el método de progresión modal mediante el programa FiSAT II. Asimismo, se determinaron los parámetros de crecimiento de la ecuación de von Bertalanffy y el desempeño del crecimiento o índice de Munro (\emptyset). **Resultados:** Se capturaron 3,242 organismos de *C. bellicosus*, de los cuales 1,770 fueron machos y 1,472, hembras. La población de *C. bellicosus* en la laguna presentó un intervalo de tallas de 40 mm a 190 mm (AC), mostrando dos modas similares para machos y hembras (100 mm y 110 mm, respectivamente). Las relaciones entre el LC-AC para ambos sexos se ajustaron a un modelo de tipo lineal (machos, LC = 0.5265AC-0.0539, $R^2 = 0.8058$, $p < 0.05$; hembras, LC = 0.581AC-0.6335, $R^2 = 0.7643$, $p < 0.05$). La relación AC-PT fue de tipo potencial (machos, PT = 0.561AC^{3.0751}, $R^2 = 0.7968$, $p < 0.05$; hembras, PT = 0.0834AC^{2.9077}, $R^2 = 0.7589$, $p < 0.05$). En hembras se estimó una $K = 0.90$ años⁻¹ y $L_\infty = 169$ mm, en los machos fue $K = 1.20$ años⁻¹ y $L_\infty = 178.5$ mm. **Conclusiones:** Las curvas de crecimiento sugirieron que *C. bellicosus* alcanzó su longitud máxima de 2.5 a 3 años. La proporción de sexos de 0.81 H : 1 M fue significativa ($X^2_{(0.05, 11)} = 19.675$, $X^2_{\text{observada}} = 58.481$, $p < 0.05$)

Palabras clave: biología, *Callinectes bellicosus*, ecología, eficiencia, Portunidae

ABSTRACT

Background: Knowledge of growth is relevant because it provides information on the local dynamics of the population. **Goals:** This study evaluated the growth, size structure, morphometry, and sex ratio of *C. bellicosus* crab caught in the El Colorado lagoon, Ahome, Sinaloa, Mexico. **Methods:** Through size distributions and by the modal-progression method using the FISAT II program. Similarly, the growth parameters of the von Bertalanffy stationalized equation and the growth performance or Munro index (\emptyset) were determined from March 2012 to March 2013. **Results:** 3,242 organisms of *C. bellicosus* were captured of which 1,770 were males and 1,472 were females. The population of *C. bellicosus* in the lagoon ranged in size from 40 mm to 190 mm (CW), showing two similar modes for males and females (100 mm and 110 mm, respectively). The relationships between CL-CW for both sexes were adjusted to a linear type model (males, CL = 0.5265CW-0.0539, $R^2 = 0.8058$, $p < 0.05$, females, CL = 0.581CW-0.6335, $R^2 = 0.7643$, $p < 0.05$). The CW-TW relationship was of potential type (males, TW = 0.561AC^{3.0751}, $R^2 = 0.7968$, $p < 0.05$; females, TW = 0.0834C^{2.9077}, $R^2 = 0.7589$, $p < 0.05$). In females, $K = 0.90$ years⁻¹ and $L_\infty = 169$ mm, $K = 1.20$ years⁻¹ and $L_\infty = 178.5$ mm. **Conclusions:** The growth curves suggest that *C. bellicosus* reaches its maximum length at 2.5 to 3 years. The sex ratio of 0.81 H : 1 M was significant ($X^2_{(0.05, 11)} = 19.675$, $X^2_{\text{observada}} = 58.481$, $p < 0.05$).

Keywords: biology, *Callinectes bellicosus*, ecology, efficiency, Portunidae

*Author for correspondence:

gdiarte@ipn.mx

To cite as:

Escamilla-Montes R., G. Diarte-Plata, C. A. Ruiz-Verdugo, S. Granados-Alcantar, A. Luna-González, H. Vázquez-López, J. A. Fierro-Coronado, G. De la Cruz-Agüero y M. T. Villalejo-Fuerte. 2018. Patrones de crecimiento y proporción de sexos de la jaiba *Callinectes bellicosus* (Decapoda: Portunidae). *Hidrobiológica* 28 (3): 301-311.

DOI:

INTRODUCCIÓN

El ciclo de vida de los portúnidos es complejo, debido a que son organismos dependientes de los sistemas lagunares, y además comprenden estadios planctónicos, nectónicos y bentónicos que se llevan a cabo entre lagunas costeras, estuarios y cerca de la zona marina, en una gran variedad de hábitats. Ecológicamente, ocupan un lugar importante en la cadena trófica, ya que son presa de muchas especies y a la vez son voraces depredadores de otras (William, 1974; Ramírez-Félix *et al.*, 2003). *Calientes bellicosus* (Stimpson, 1859) es un recurso pesquero marino que se explota en casi todas las costas del Pacífico mexicano. Es una especie estenohalina que tolera un intervalo de salinidad de 31-38 ups; se encuentra en un intervalo de temperatura de 4 a 18 °C y habita en profundidades de 0-30 m (Paul, 1982a). Sus capturas son tradicionalmente de tipo artesanal, mediante el empleo de artes de pesca muy sencillos, de bajo costo y de fácil elaboración. Además, se considera que estos organismos también son susceptibles de cultivo, ya que tienen un amplio mercado internacional (INP, 1984). En las poblaciones sometidas a explotación, el conocimiento de la eficiencia y caracterización del crecimiento individual es de suma importancia, puesto que con ello se determina la magnitud de la disponibilidad del recurso en el sistema (Munro & Pauly, 1983; Sparre & Venema, 1997). En este sentido, es evidente que al obtener una comprensión detallada del patrón de crecimiento de una especie se logran estimaciones más precisas, o por lo menos con márgenes de variabilidad conocidos, sobre el tamaño de la población y su disponibilidad para la explotación (Arreguín-Sánchez & Defeo, 1991). De tal manera, el conocimiento del crecimiento y proporción de sexos en esta especie es relevante porque proporciona información de la dinámica local de la población estudiada, y así es posible establecer tallas de captura que garanticen que la pesca está incidiendo sobre adultos postreproductivos y, a su vez, permitiendo que los organismos jóvenes puedan llegar a la edad reproductiva para después integrarse al stock a explotar (Arreola-Lizárraga & Hernández-Moreno, 2007; Arciniega-Flores & Mariscal-Romero, 2013).

Por otro lado, las lagunas costeras y estuarios presentan diferencias en sus características hidrológicas y geomorfológicas. A lo cual también se suma la escasa información sobre la influencia de variables fisicoquímicas en condiciones naturales (temperatura y salinidad) sobre el crecimiento (estructura de tallas, relaciones morfométricas, eficiencia del crecimiento) y la proporción de sexos en la jaiba *C. bellicosus* (INP, 1984; Arreola-Lizárraga *et al.*, 2003; Ramírez-Félix *et al.*, 2003; Arreola-Lizárraga & Hernández-Moreno, 2007). En consecuencia, el presente estudio analizó los patrones de crecimiento y la proporción de sexos de la jaiba *C. bellicosus* en la laguna El Colorado, en Sinaloa, México, con la finalidad de aportar más información sobre aspectos de dinámica poblacional (crecimiento y proporción de sexos) para una mejor administración del recurso en la zona de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo. La laguna El Colorado es un cuerpo de agua somero de aproximadamente 146 km², con aportes del río Fuerte y los drenes agrícolas Colorado y Pascola. Se localiza en el municipio de Ahome, al norte del estado de Sinaloa, México, en las coordenadas 25° 39' y 25° 47' N, y los 109° 16' y 109° 24' O. Al oeste se encuentra semi-cerrada por la isla Lechuguilla y al suroeste presenta una conexión al mar circundada por una gran cantidad de esteros y manglares (Fig. 1). La temperatura del agua fluctúa entre 21.5 y 32.7 °C (con promedio durante el verano de 32.1 °C y en el invierno de 22.0 °C). La salinidad tiene variaciones de 37 a 48 ups, con un pH de 7.71 a 8.13, y el oxígeno

disuelto se reporta entre 5.43 a 8.53 mg/l (Diez-Pérez & Ramírez, 1976; Cárdenas-Gámez, 2007; Diarte-Plata, 2007).

Variables ambientales. Los parámetros ambientales, como la temperatura (YSI 55^{MR}) y la salinidad (refractómetro Atago^{MR}), se registraron mensualmente en cada estación de muestreo (Diarte-Plata, 2007).

Diseño de muestreo. Se realizó un muestreo con diseño tipo grilla entre marzo de 2012 y marzo de 2013. Los organismos fueron capturados mensualmente en cinco estaciones de muestreo entre las 6:00 y 12:00 h. Dichas estaciones fueron ubicadas con un geoposicionador (Garmin-45^{MR}), considerando el comportamiento biológico, según lo reportado por Palacios-Fest (2002), y cubrieron las zonas este (E1 y E2, zona de esteros y manglar), sur (E3, manglar), oeste (E4, bocabarra, dunas-zona central) y norte (E5, manglar) (Fig. 1). Para la captura de los organismos se consideró el calado de tres líneas de trampas por estación de muestreo. Cada línea, con una longitud (Nm-milla náutica) de 0.2160 Nm (400 m) y una separación de 0.1620 Nm (300 m) entre líneas, se formó con 40 trampas (aros jaiberos con un diámetro (\varnothing) de 0.50 m y 1" de luz de malla). En el caso de los aros jaiberos, la distancia entre ellos fue de 0.0054 Nm (10 m). Se realizaron 600 lances de trampas mensualmente y se utilizó pescado (*Mugil* sp.) como carnada. El tiempo de acción de la carnada en cada línea de trampas fue de 15 min antes de extraer a los organismos. Las jaibas capturadas se conservaron en hielo hasta su traslado al laboratorio, en donde se realizó la identificación de la especie (Hendrickx, 1984).

Biometrías y determinación del sexo. Para cada organismo se registró el ancho (AC) y largo (LC) del caparazón con un vernier digital de 0.05 mm de precisión (Mitutoyo^{MR} 500-197). Para obtener el peso total (PT) se utilizó una balanza digital (Ohaus^{MR}, Scout Pro SP 200). Se determinó el sexo con base en la forma del abdomen y telson (Hendrickx, 1984; Escamilla-Montes, 1998).

Estructura de tallas. El ancho de caparazón (AC) se tomó como medida de referencia para realizar histogramas de frecuencias de tallas por cada sexo por mes, los cuales se tomaron como base para el cálculo de los parámetros de crecimiento de la ecuación de Von Bertalanffy mediante el programa FiSAT II (Pauly & Munro, 1984).

Morfometría. Con el propósito de obtener los parámetros morfométricos y estimar el crecimiento relativo de la jaiba *C. bellicosus*, se procesaron los datos para determinar el tipo de modelo de mejor ajuste para las relaciones LC - AC y AC - PT. Los valores se ajustaron a regresiones de tipo lineal ($Y = a + bX$) y de tipo potencial ($Y = a X^b$), donde a es la ordenada al origen y b es la pendiente. El valor estimado de la variable b nos indica el tipo de crecimiento, cálculo que se obtuvo con una prueba t , con la cual se determinó si el crecimiento que mostró la especie fue isométrico ($b = 3$) o alométrico ($b \neq 3$). La ecuación que se utilizó para lo anterior fue la siguiente (Ricker, 1975; Salgado-Ugarte *et al.*, 2005; Zar, 2010):

$$t = \frac{e.sx}{e.su} * \frac{/b - 3/}{\sqrt{1 - r^2}} * \sqrt{n - 2}$$

Donde:

$e.s(x)$ = desviación estándar del logaritmo del ancho del caparazón,

$e.s(y)$ = desviación estándar del logaritmo del PT,

n = número de organismos utilizados en el análisis,

r^2 = coeficiente de correlación de la relación PT-AC.

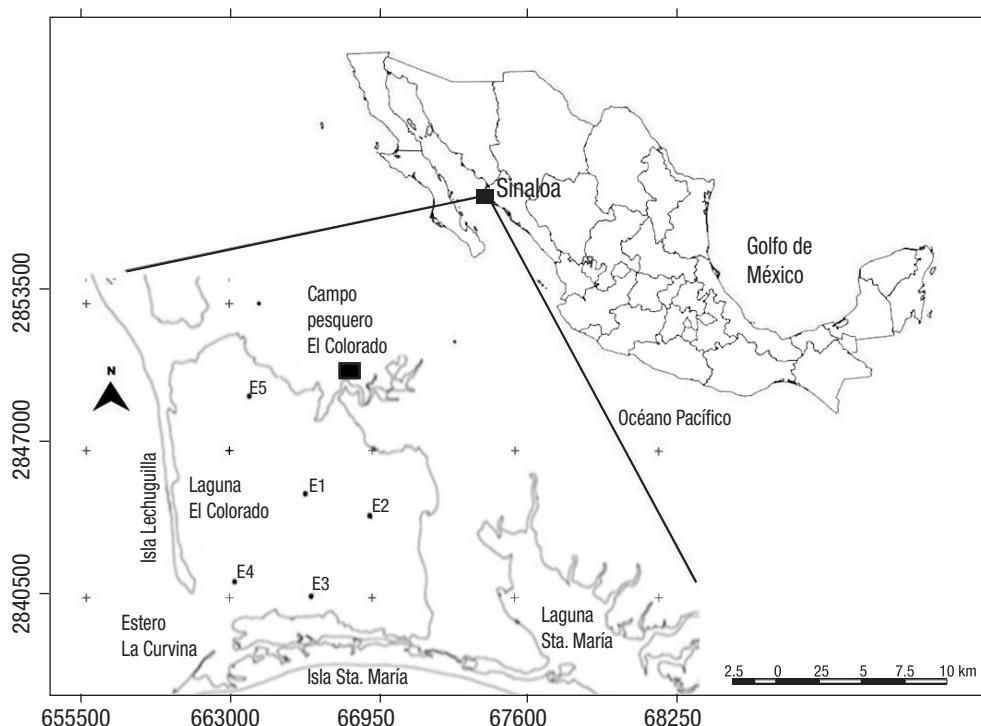


Figura 1. Área de estudio en la laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa, México, mostrando las cinco estaciones donde se realizó el muestreo.

El valor de b es diferente de 3 si t_0 es más grande que el valor de tablas de t para $n-2$ grados de libertad ($\alpha = 0.05$) (Pauly & Munro, 1984).

Crecimiento. Para el modelo estacionalizado de crecimiento de von Bertalanffy se utilizaron los datos de AC, los cuales se agruparon en histogramas de frecuencia con intervalos de 10 mm, y se calcularon los parámetros L_∞ y k mediante el método de progresión modal utilizando el programa FISAT II (FAO-ICLARM Stock Assessment Tools II, Roma, Italia; Pauly, 1993; Sparre & Venema, 1997). Los valores se proyectaron en el tiempo al obtener los cálculos para cada parámetro de la ecuación de crecimiento con los organismos de menores tallas como valor de origen al inicio.

Para t_0 se tomó el valor propuesto por otros autores, lo cual permitió estimar la edad absoluta de la especie en estudio (Arreola-Lizárraga & Hernández-Moreno, 2007; Arciniega-Flores & Mariscal-Romero, 2013). Como el crecimiento es oscilatorio, el modelo está dado por la ecuación de crecimiento estacionalizada de von Bertalanffy (Pauly & Munro, 1984).

$$L_t = L_\infty \left[1 - e^{-k(t-t_0) + (C^*K/2\pi)(t-ts)} \right]$$

Donde:

L_t = Longitud calculada del organismo a la edad t .

L_∞ (Longitud infinita) = Longitud media que los organismos podrían alcanzar en caso de crecer hasta una edad muy avanzada.

k = Coeficiente de crecimiento.

t_0 = Edad hipotética del organismo más pequeño (al momento de nacer el organismo ya tiene cierta longitud, por lo que generalmente el t_0 tiene un valor negativo).

C = Constante de amplitud en la oscilación del crecimiento, varía entre 0 y 1.

ts = Punto de partida de la oscilación del crecimiento. Está dado por la ecuación $t_{\infty} = ts + 0.5$.

Wp (Winter point) = Fracción del año donde el crecimiento es menor.

Para la comparación de las curvas de crecimiento por sexos se utilizó el método de análisis de la suma de cuadrados residuales (Pauly & Munro, 1984; Chen *et al.*, 1992; Escamilla-Montes, 1998).

Eficiencia del crecimiento. Se determinó la variación de la eficiencia del crecimiento (AC) mediante la ecuación Phi prima de Munro (φ') (Arciniega-Flores & Mariscal-Romero, 2013).

$$\varphi' = \log k + 2 * \log AC_\infty$$

Para calcular la significancia de la eficiencia del crecimiento se utilizó el coeficiente de variación ($CV\varphi'$), el cuál es el equivalente a la razón entre la media aritmética ($ACProm.$) y la desviación estándar de las Phi primas a comparar (φ') (Munro & Pauly, 1983; Pauly & Munro, 1984; Pauly, 1993; Sparre & Venema, 1997; Arciniega-Flores & Mariscal-Romero, 2013).

$$CV\varphi' = \frac{\sigma\varphi'}{ACProm.} * 100$$

Proporción de sexos. Se expresó en términos del número total de hembras (H) con relación al número total de machos (M). Se aplicó la prueba de Chi-cuadrada (χ^2) para determinar una significancia entre la relación teórica-esperada (1H: 1M) y la relación calculada (Hendrickx, 1984; Escamilla-Montes, 1998). La χ^2 se expresó como:

$$\chi^2 = \sum i - \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Donde:

$\sum i$ = suma,

O_i = Relación observada,

E_i = Relación esperada.

Los valores calculados y tabulados de χ^2 se compararon con una $\alpha = 0.05$ para determinar el nivel de significancia (Zar, 2010).

RESULTADOS

Variables ambientales. En la laguna El Colorado la temperatura del agua presentó un intervalo anual que osciló de 18.4 (enero y marzo 2013) a 31.8 °C (agosto de 2012) (Fig. 2). Por estación de muestreo, la temperatura mínima fue de 24.48 °C en la E1 y la máxima de 25.52 °C en la E5. Se observaron diferencias significativas en la temperatura registrada entre las estaciones de muestreo durante el ciclo anual (meses) ($F_{11,0.05} = 5.955, p = 0.000008$). La salinidad tuvo una leve variación en el intervalo anual, con valores mínimos de 32 ups en agosto y septiembre de 2012, y un valor máximo de 38 ups en enero de 2013 (promedio de 35 ups); en cambio, se registraron diferencias significativas entre los meses de muestreo ($F_{11,0.05} = 3.363, p = 0.002116$) pero no entre las estaciones por mes ($F_{4,0.05} = 1.342, p = 0.2661$) (Fig. 2).

Estructura de tallas. Se capturaron un total de 3,242 jaibas, de las cuales fueron 1,770 machos y 1,472, hembras. La población de *C. belllicosus* en la laguna presentó un intervalo de tallas de 40 mm a 190 mm (AC) (Figs. 3 a-l), de las cuales se obtuvieron dos modas similares, 100 mm para machos y 110 mm para hembras. En los machos la frecuencia

de talla registrada osciló de 50 mm a 190 mm (AC), mientras que en las hembras fue de 50 mm a 150 mm AC.

Morfometría. Las relaciones entre el LC-AC para machos y hembras se ajustaron a un modelo de tipo lineal (machos, LC = 0.5265AC-0.0539, $R^2 = 0.8058, p < 0.05$; hembras, LC = 0.581AC-0.6335, $R^2 = 0.7643, p < 0.05$). La relación AC-PT fue de tipo potencial en ambos sexos (machos, PT = 0.561AC^{3.0751}, $R^2 = 0.7968, p < 0.05$; hembras, PT = 0.0834AC^{2.9077}, $R^2 = 0.7589, p < 0.05$) (Figs. 4 a-b). Se observaron diferencias significativas en los valores de la prueba de significancia *t* de la pendiente (*b*) entre machos (*b* = 3.07, isométrico, *t* = 5.60) y hembras (*b* = 2.90, alométrico negativo, *t* = 1.36). La relación AC-PT mostró que los machos son más grandes que las hembras, y también se observó una tendencia de crecimiento tanto alométrico como isométrico.

Crecimiento. Los parámetros de crecimiento del modelo estacionalizado de von Bertalanffy estimados en hembras fue de $L_\infty = 169$ mm y $k = 0.90$ año⁻¹, y en machos fue de $L_\infty = 178.5$ mm y $k = 1.20$ año⁻¹. Los resultados mostraron que la edad relativa a la cual los organismos de *C. belllicosus* alcanzaron el crecimiento máximo fue entre los 3 y 4 años de edad para ambos sexos (Fig. 5, Tabla 1). Las tasas de crecimiento fueron de 23.67 mm mes⁻¹ en los machos y de 12.62 mm mes⁻¹ en las hembras.

Eficiencia del crecimiento. El desempeño de los parámetros de crecimiento, esto es, el índice de Munro (\emptyset), fue de 4.58 para los machos y 4.41 para las hembras. El coeficiente de variación (CV) para los machos fue de 5.96% y para las hembras de 5.30% (Tabla 2).

Proporción de sexos: La proporción sexual presentó una dominancia por organismos machos (0.81 H: 1 M; $\chi^2_{(0.05, 11)} = 19.675, \chi^2 = 58.481, p < 0.05$), mientras que la mayor proporción de hembras se observó sólo en marzo de 2013 con un 70% (1.32 H: 1 M, $\chi^2 = 2.920, p < 0.05$) (Fig. 6, Tabla 3).

DISCUSIÓN

En la laguna El Colorado la temperatura superficial del agua (18.4 - 31.8 °C) mantuvo un patrón estacional distintivo de la región, similar a lo reportado por Diarte-Plata (2007) en la misma laguna, donde el intervalo de temperatura osciló entre 19.3 y 31.2 °C. En cuanto a las fluctuaciones leves en la salinidad durante los meses de muestreo, posiblemente se deban a la influencia de la temporada de lluvias, las cuales se presentaron principalmente en el periodo verano-otoño (julio-octubre), y al tiempo de residencia que teóricamente tarda 1.25 días para que ocurra un 100% del agua en la laguna El Colorado, propiciando condiciones similares a características oceánicas (Cárdenas-Gámez, 2007; Diarte-Plata, 2007). Las condiciones de temperatura y salinidad son factores claves en la presencia de las jaibas de *C. belllicosus*, pues dieron lugar a la agregación en la laguna (Severino-Rodríguez *et al.*, 2013). En este sentido, Paul (1982 a-b) mencionó que los adultos del género *Callinectes* son estenohalinos, en particular *C. belllicosus*, por ello sus larvas requieren salinidades del ambiente marino, y las hembras grávidas liberan los huevecillos en las bocas de las lagunas costeras y esteros. Arreola-Lizárraga *et al.* (2003) observaron que las poblaciones de esta especie parecen tener una distribución heterogénea por tamaños y sexos en aguas con temperaturas entre los 20 y 32 °C; valores térmicos que coinciden con los registrados para este trabajo en la laguna El Colorado.

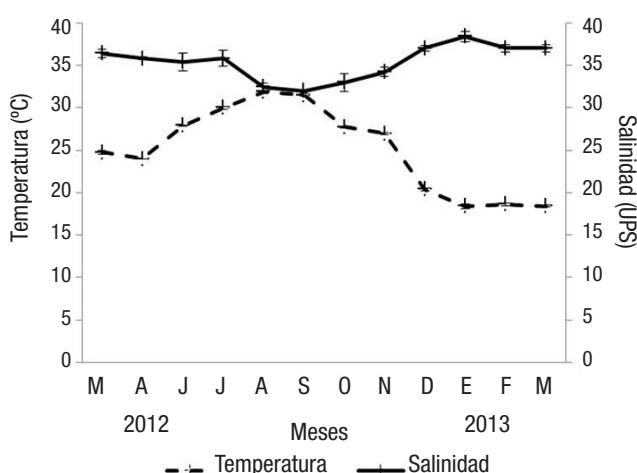
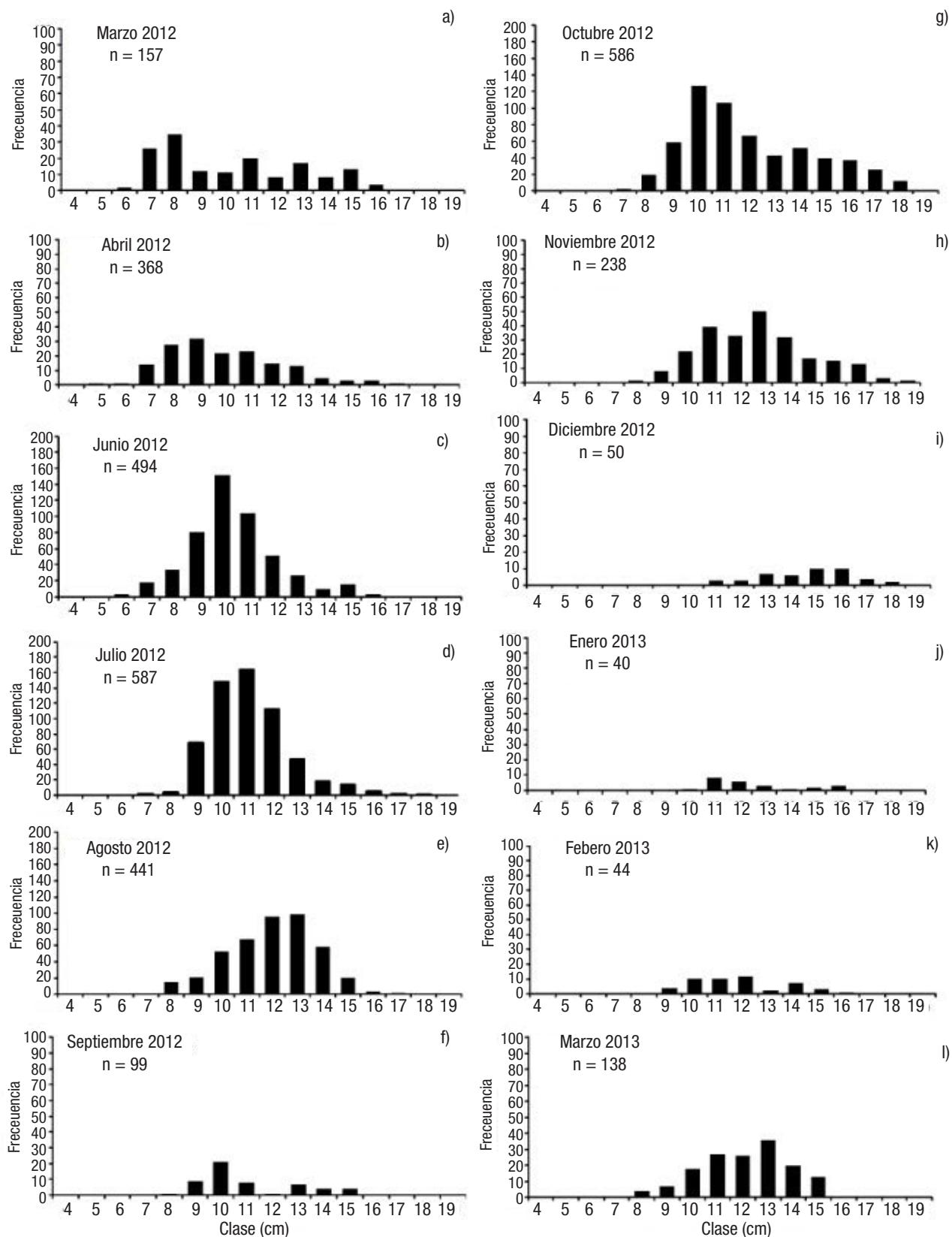


Figura 2. Variación de la temperatura y salinidad en la laguna El Colorado, Aheme, Sinaloa, México.



Figuras 3a-l. Estructura de tallas mensual de las jaibas de *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859) en laguna El Colorado, Sinaloa, México.

Tabla 1. Parámetros y ecuaciones de crecimiento calculados para la ecuación de von Bertalanffy para *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859) en la Laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa, México.

Sexo	Parámetros de crecimiento	Ecuación	Índice de Munro (θ')
Machos	$L_{\infty} = 178.5$ mm $K = -1.20$ $t_0 = 0.07$	$L_t = 178.5 [1 - e^{-1.20(t-0.07)} + 0.5(1.20/6.28) \operatorname{sen} 6.28(t-0.07)]$	4.58
Hembras	$L_{\infty} = 169$ mm $K = -0.90$ $t_0 = 0.16$	$L_t = 169 [1 - e^{-0.90(t-0.16)} + 0.5(0.55/6.28) \operatorname{sen} 6.28(t-0.09)]$	4.41

La distribución de la frecuencia de tallas brinda información sobre los procesos de la dinámica poblacional, tales como crecimiento, mortalidad y reclutamiento, así como también acerca de los movimientos de la población (Rodríguez-Félix, 2017). En el presente trabajo las frecuencias de tallas registradas de los machos fluctuaron entre los 50 y 190 mm (AC), mientras que en las hembras oscilaron entre 50 y 150 mm (AC). Estos resultados difieren con lo reportado por Hernández-Moreno & Arreola-Lizárraga (2007), quienes capturaron organismos con tallas entre 90 y 122 mm. No obstante, son similares a lo observado por Salazar-Navarro *et al.* (2002), quienes capturaron organismos con tallas en el intervalo de 40 a 120 mm. En contraste, Molina-Ocampo (2001) y Nevárez-Martínez *et al.* (2003) reportaron una estructura de tallas

de 20 a 98 mm (AC). Las relaciones AC-PT registradas en los machos sugieren que tuvieron mayor talla y peso total que las hembras; estos resultados coinciden con estudios llevados a cabo en otras localidades del Pacífico mexicano en donde los organismos colectados mostraron la misma tendencia de crecimiento (Paul, 1982b; Escamilla-Montes, 1998; Molina-Ocampo, 2001; Hernández-Moreno & Arreola-Lizárraga, 2007; López-Martínez *et al.*, 2014). Los valores de b para las hembras fueron cercanos a 3 ($b \neq 3$), lo cual indica que su crecimiento es alométrico; su tendencia fue crecer más en peso que en talla, mientras que los machos presentaron un crecimiento isométrico ($b = 3$), crecieron de igual manera en talla y peso total. Resultados similares a los observados en este estudio fueron obtenidos por Molina-Ocampo (2001) en *C. bellicosus*, puesto que tanto los organismos machos como hembras presentaron la misma tendencia de crecimiento, lo que puede atribuirse a un desfasamiento en la condición biológica óptima de las hembras, debido a bajas tasas de alimentación y a un mayor gasto energético en la temporada reproductiva (Molina-Ocampo, 2001). Por su parte, en Oaxaca, Gil-López y Sarmiento-Náfate (2001) realizaron un estudio similar con machos y hembras de *C. arcuatus* (Ordway, 1863) y *C. bellicosus* (Stimpson, 1859), y encontraron que el crecimiento fue alométrico en los adultos. Nevárez-Martínez *et al.* (2003) obtuvieron valores de $b = 2.816$ y $b = 2.802$ en la jaiba *C. arcuatus* en las bahías de Guásimas y Lobos (Sonora, México) respectivamente, lo que demuestra un crecimiento isométrico en ambos sexos. Esto sugiere que las especies de jaibas tienden a mostrar un crecimiento isométrico inicial, que eventualmente puede mudar hacia un crecimiento alométrico, debido a la presencia de hembras en la temporada reproductiva. En los braquiuros esta interrupción en el crecimiento parece ser general para las hembras, ya que se ha asociado que detienen su desarrollo para destinar gran parte de su energía al proceso reproductivo, en tanto que los machos continúan creciendo aun después de alcanzar la madurez sexual; además, la cópula se realiza cuando la hembra está madura y mientras regenera el exoesqueleto, por lo que el macho que la fecunda debe tener mayor talla para protegerla de depredadores (Sastry, 1983). Los parámetros de crecimiento se pueden aplicar para estimar el tamaño que alcanzarán los organismos hasta una talla máxima asintótica en un tiempo dado (Hernández-Moreno & Arreola-Lizárraga, 2007). Los parámetros de crecimiento estimados en este estudio mostraron que la edad relativa a la cual las jaibas *C. bellicosus* alcanzaron su longitud máxima fue de 2.5 a 3 años. Hay que mencionar que para que los crustáceos puedan alcanzar su tamaño asintótico suelen presentar una serie de factores, como una vida corta o una alta tasa de crecimiento, y que cuando son sometidos a una intensa tasa de explotación tienen menos oportunidades para alcanzar su tamaño máximo (Gil-López & Sarmiento-Náfate, 2001; Nevárez-Martínez *et al.*, 2003). Los parámetros de k y L_{∞} estimados para *C. bellicosus* mostraron una disminución

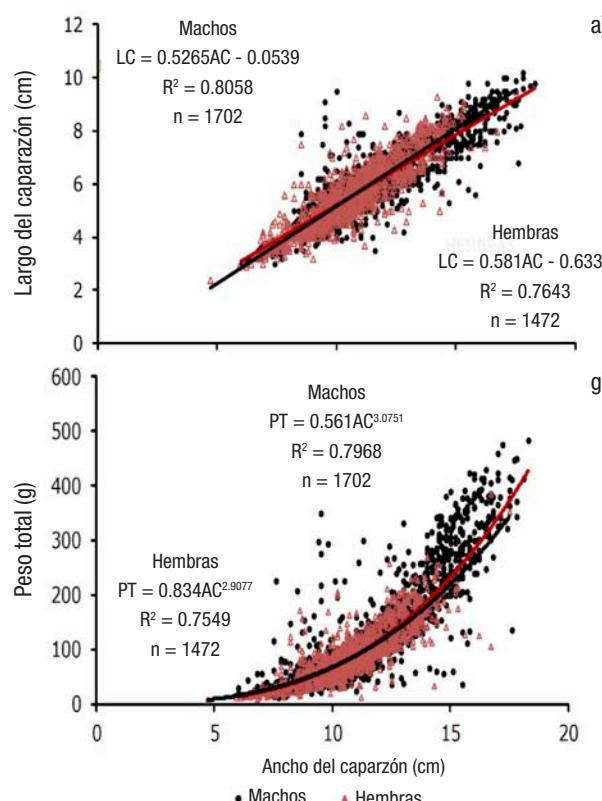


Figura 4a-b. Relaciones morfométricas LC-AC y AC-PT de hembras y machos de la jaiba *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859). a) Relación largo del caparazón versus ancho del caparazón; b) Relación peso total versus ancho del caparazón.

Tabla 2. Comparación de la eficiencia del crecimiento (ϕ') para machos y hembras de la jaiba *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859), en distintas lagunas costeras de México.

Sexo	L_{∞} (mm)	K (año)	ϕ'	Fuente	Localidad
Machos	178.5	1.20	4.58	Este estudio	El Colorado, Ahome, Sinaloa
	169	0.90	4.41	Hernández y Arreola-Lizarraga (2003)	Las Guásimas, Sonora
	177	2.7	4.93	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Topolobampo, Sinaloa
	174	2.8	4.93	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Navachiste, Sinaloa
	169	3.1	4.95	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Santa María La Reforma, Sinaloa
	174	2.8	4.93	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Ensenada del Pabellón-Altata, Sinaloa
	179	2.6	4.92	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Ceuta, Sinaloa
	180	0.68	4.34	Gil y Sarmiento (2001)	Mar Muerto Oaxaca- Chiapas
	181	0.8	4.42	Escamilla-Montes (1998)	El Conchalito, B.C.S
	Media	4.7268			
Desv. Est	0.2817				
C.V.	5.96				
Hembras	178.5	1.20	4.58	Este estudio	El Colorado, Ahome, Sinaloa
	169	0.90	4.41	Hernández y Arreola-Lizarraga (2003)	Las Guásimas, Sonora
	152	3.5	4.91	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Topolobampo, Sinaloa
	149	3.7	4.92	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Navachiste, Sinaloa
	150	3.6	4.91	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Santa María, La Reforma, Sinaloa
	148	3.9	4.93	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Ensenada del Pabellón-Altata, Sinaloa
	149	3.6	4.91	Salazar <i>et al.</i> (2003)	Ceuta, Sinaloa
	180	0.68	4.34	Gil y Sarmiento (2001)	Mar Muerto Oaxaca- Chiapas
	231	0.5	4.43	Escamilla-Montes (1998)	El Conchalito, B.C.S
	Media	4.7376			
Desv. Est	0.2511				
C.V.	5.30				

en las tasas de crecimiento de ambos sexos durante el periodo de estudio. Esto puede atribuirse a que los muestreos para esta evaluación se dirigieron a capturar organismos de todas las tallas de la población, donde la captura se basó tanto en juveniles como adultos; información a partir de la cual se construyeron las curvas de crecimiento, cuyos valores de edad posiblemente difieren de los calculados en los trabajos

realizados en el Pacífico mexicano. Cabe mencionar que investigaciones previas realizadas sobre crecimiento en *C. bellicosus*, *C. arcuatus* y *C. toxotes* (Ordway, 1863) se basan en datos provenientes de capturas comerciales donde los organismos dominantes fueron adultos (Paul, 1982a; Estrada-Valencia, 1999; Molina-Ocampo, 2001; Gil-López & Sarmiento-Náfate, 2001; Nevárez-Martínez *et al.*, 2003).

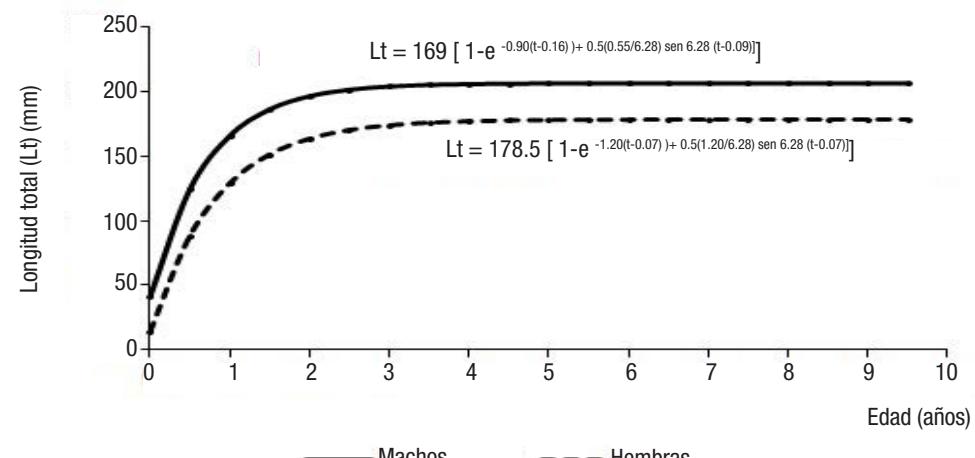


Figura 5. Curvas de crecimiento de hembras y machos de la jaiba *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859).

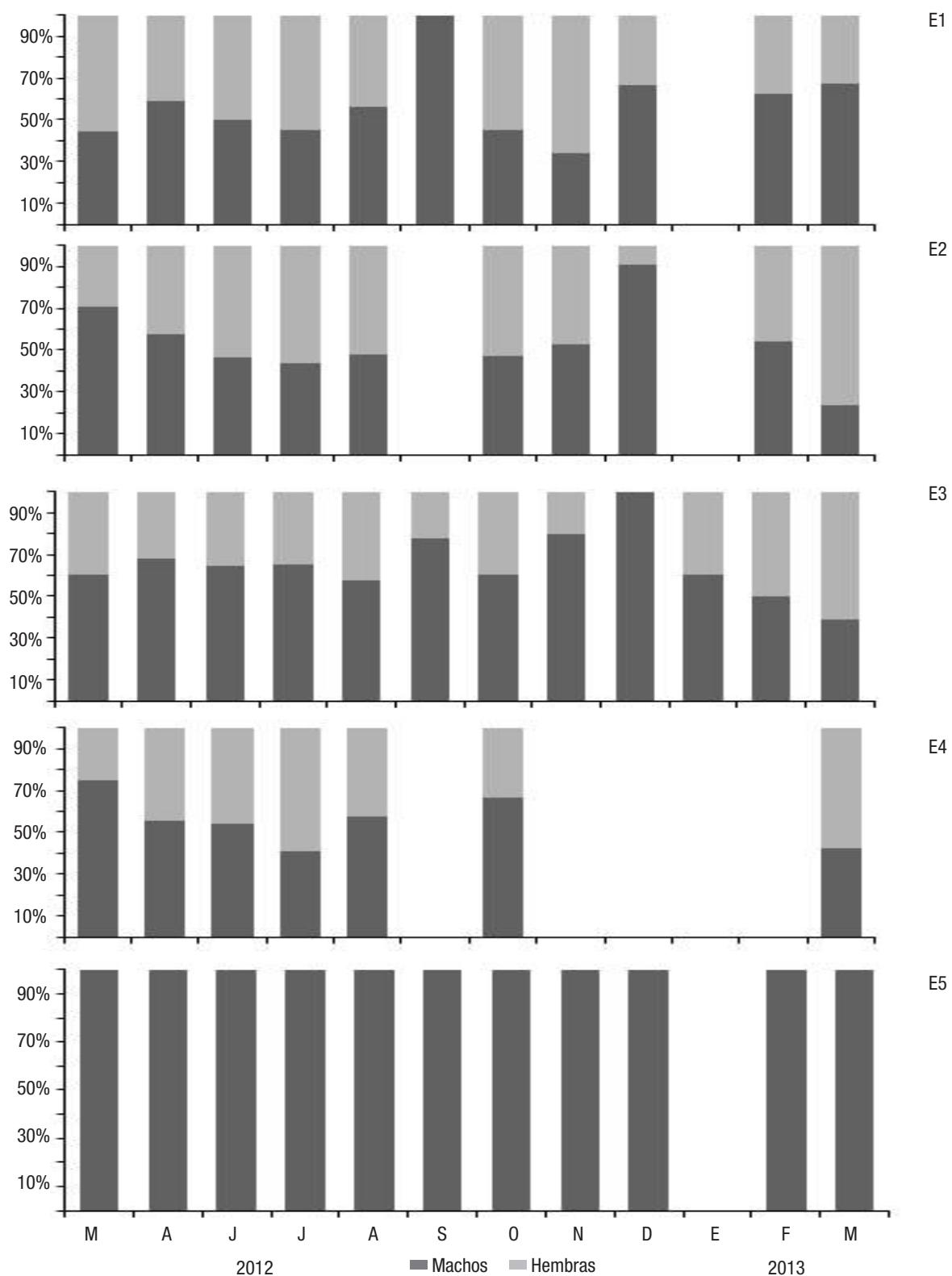


Figura 6. Proporción de sexos mensual y por estaciones de muestreo de *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859), en la laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa, México. (Relación Hembra: Macho, $\chi^2_{(0.05, 11)} = 19.675$, $\chi^2_{\text{observada}} = 58.481$, $p < 0.05$).

La eficiencia en el crecimiento se evaluó mediante los parámetros de crecimiento estimados para la jaiba *C. bellicosus*, los cuales fueron comparados con estudios en diferentes regiones del Pacífico mexicano mediante el índice phi prima de Munro (ϕ'). El criterio del coeficiente de variación (CV) que se estableció para poder asumir que los resultados eran estadísticamente similares fue el de no exceder en diferencia del 4% (Pauly, 1983; Pauly & Munro, 1984; Pauly, 1993; Arreola-Lizárraga & Hernández-Moreno, 2007; Arciniega-Flores & Mariscal-Romero, 2013). La eficiencia del crecimiento que se encontró en *C. bellicosus* para los machos fue de CV = 5.96, y en las hembras fue de CV = 5.30. Los coeficientes de variación (CV) tuvieron diferencias significativas en la misma especie al compararse en otras regiones del Pacífico mexicano. Los resultados en laguna El Colorado son similares con los reportados por Arciniega-Flores & Mariscal-Romero (2013), quienes mencionan que en sistemas lagunares con un régimen climático subtropical y templado, el crecimiento no es constante a lo largo del año. Además, refieren que en épocas cálidas en las que existe mayor disponibilidad de alimento, el crecimiento es más rápido que cuando las temperaturas son más bajas. Aunado a lo anterior, cabe señalar que los parámetros de crecimiento pueden variar de una población a otra, e incluso, en la misma especie puede haber valores diferentes durante su ciclo de vida. Asumiendo la diversidad de las variables citadas, se puede considerar que en la presente investigación la pesca constante que se ejerce en el sistema lagunar El Colorado, Ahome, Sinaloa (Arciniega-Flores & Mariscal-Romero, 2013) actúa como un suceso que influye en las estimaciones del crecimiento de la jaiba *C. bellicosus*.

La proporción de sexos 1:1 aumenta la probabilidad de éxito reproductivo (Fisher, 1930), y en crustáceos la proporción teórica esperada

es 1:1 (Warner, 1977). En las causas de segregación por sexos, incluyen la preferencia y la disponibilidad de alimento, reducción del riesgo de depredación intraespecífica, costo energético por apareamiento fuera de la época reproductiva, búsqueda de mejor hábitat o diferentes tasas de mortalidad y crecimiento, así como la influencia del ambiente sobre los organismos (Cobb & Wang, 1985; Cobb & Caddy, 1989; Heupel *et al.*, 2007). En este sentido, en el presente estudio los machos de *C. bellicosus* dominaron sobre las hembras en la laguna El Colorado, lo cual nos sugiere que para la población no ocurren problemas dentro del sistema lagunar en cuanto a asegurar el suministro de esperma que maximiza la producción de huevos en los desoves, lo que mantiene estable o en crecimiento a la población (Cisneros-Mata *et al.*, 2014). Nuestros resultados en la laguna El Colorado coinciden con lo reportado en Cuyutlán, Colima, por Estrada-Valencia (1999), quien mencionó que la dominancia de machos en las capturas puede estar relacionada con su voracidad, así como con la conducta reproductiva de las hembras, las cuales tienden a agruparse en sitios con temperaturas y salinidades estables, y por lo tanto, a no ser detectables para desovar fuera de la laguna durante todo el año, lo que coincide con las características de la zona de muestreo, que presentó condiciones mayormente marinas que salobres, debido a que mantiene una conexión permanente con la boca barra del sistema lagunar y el golfo de California (Cárdenas-Gámez, 2007). En la bahía de La Paz, Baja California Sur, y el delta del río Colorado, Sonora, los machos representaron el 80% de la población capturada, aunque en algunas ocasiones se presentaron más hembras que machos (Escamilla-Montes, 1998; Villarreal-Chávez *et al.*, 2003). Lo observado en laguna El Colorado difiere con la bahía de Matanchén, Nayarit, México, donde las hembras fueron ligeramente

Tabla 3. Proporción de sexos mensual de *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859), en la Laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa, México.

Mes	Hembras	Machos	Total	Proporción	
				Hembras : Machos	X ²
Marzo/2012	73	84	157	0.87 H : 1 M	0.770
Abrial	131	237	368	0.55 H : 1 M	30.532
Junio	203	291	494	0.70 H : 1 M	15.676
Julio	310	277	587	1.12 H : 1 M	1.855
Agosto	189	252	441	0.75 H : 1 M	9.0
Septiembre	42	57	99	0.74 H : 1 M	2.272
Octubre	271	315	586	0.86 H : 1 M	3.303
Noviembre	116	122	238	0.95 H : 1 M	0.151
Diciembre	16	34	50	0.47 H : 1 M	6.48
Enero/2013	16	24	40	0.66 H : 1 M	1.6
Febrero	18	26	44	0.69 H : 1 M	1.454
Marzo	87	51	138	1.71 H : 1 M	9.391
TOTAL	1472	1770	3242	0.81 H : 1 M	82.488
Total de X ² (pool de X ²)					27.391
Heterogenidad de X ²					55.096
X ² (0.05, 11)					19.675

dominantes (53%) en un ciclo anual (Chávez-Dagostino, 1998). Asimismo, con el estudio realizado en el sistema lagunar La Joya-Buenavista, Chiapas, en donde el 77.4% de las capturas correspondió a hembras (Ramos-Cruz, 2008). De igual modo, en esta investigación se presentó una dominancia del 70% (1.32 H : 1 M) de hembras sólo en marzo de 2013, en la laguna El Colorado. Esta variación puede deberse a que en el género *Callinectes* la proporción de sexos varía temporalmente cuando las hembras ovígeras migran a la boca de las lagunas costeras para liberar los huevecillos, aunque después regresen al interior (Branco & Masunari, 2000; Baptista et al., 2005).

En conclusión, el presente estudio aporta información acerca de parámetros poblacionales de *C. bellicosus* en la laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa, los cuales resultan importantes para tener un mejor manejo de su pesquería y para su óptima conservación en el sistema lagunar.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por el CONACYT (CVU-237197), COTEBAL, COFFA, EDI y SIP (proyecto SIP20130595, SIP20150639) del Instituto Politécnico Nacional.

REFERENCIAS

- ARCINIEGA-FLORES, J. & J. MARISCAL-ROMERO. 2013. Estructura poblacional y crecimiento individual de *Callinectes arcuatus* en la Laguna Barra de Navidad, Jalisco. *Ciencia Pesquera* 21 (1): 15-26.
- ARREGUÍN-SÁNCHEZ F. & O. DEFEO. 1991. Análisis del crecimiento de la almeja amarilla *Mesodesma mactroides* de la costa uruguaya en base a datos de composición por longitudes. *Frente Marítimo* 9: 75-81.
- ARREOLA-LIZÁRRAGA, J. A., L. G. HERNÁNDEZ-MORENO, S. HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, J. FLORES-VERDUGO, C. LECHUGA-DEVEZÉ & A. A. ORTEGA-RUBIO. 2003. Ecology of *Callinectes arcuatus* and *C. bellicosus* (Decapoda; Portunidae) in a coastal lagoon of Northwest Mexico. *Crustaceana* 76 (6): 651-664. DOI: [10.1163/156854003322381487](https://doi.org/10.1163/156854003322381487)
- BAPTISTA, C., M. A. PINHEIRO, BLANKENSTEYN, A. & C. A. BORZONE. 2005. Biología populacional e reproductiva de *Callinectes danae* Smith (Crustacea, Portunidae), no Belneário Shangri-lá, Portal de Paraná, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22: 446-453. DOI: [10.1590/S0101-81752005000200022](https://doi.org/10.1590/S0101-81752005000200022)
- BRANCO, J. O. & S. MASUNARI. 2000. Reproductive ecology of the blue crab, *Callinectes danae* Smith, 1869 in the Conceição lagoon system, Santa Catarina Isle, Brazil. *Revista Brasileira de Biología* 60: 17-27. DOI: [10.1590/S0034-71082000000100004](https://doi.org/10.1590/S0034-71082000000100004)
- CARDENAS-GÁMEZ, S. 2007. Modelación hidrodinámica de la laguna costera El Colorado, Ahome, Sinaloa. Tesis de Maestría, CIIDIR IPN Sinaloa, Guasave, Sinaloa, México. 94 p.
- CHÁVEZ-DAGOSTINO R. M. 1998. Contribución al estudio biológico de la jaiba *Callinectes arcuatus* Ordway, en el sur de Nayarit y norte de Jalisco, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ingeniería Pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit. Nayarit, México. 80 p.
- CHEN, Y., D. A. JACKSON & H. H. HERVEY. 1992. A comparison of Von Bertalanffy and polynomial functions in modeling fish growth data. *Journal Fish Aquatic* 49: 1228-1235.
- CISNEROS-MATA, M. A., E. RAMÍREZ, J. A. GARCÍA, V. CASTAÑEDA, A. LABASTIDA, C. GÓMEZ & J. MADRID. 2014. Pesca de jaiba en el litoral del Pacífico mexicano. Instituto Nacional de Pesca, Sagarpa. Ciudad de México, México. 89 p.
- COBB, J. S. & D. WANG. 1985. Fisheries biology of lobsters and crayfishes. In: Bliss, D. E. (ed). *The Biology of Crustacea*. Academic Press, Orlando, Florida, pp. 167-247.
- COBB, J. S. & J. F. CADDY. 1989. The population biology of decapods. In: Caddy, J. F. (ed). *Marine Invertebrate Fisheries: Their Assessment and Management*. John Wiley & Sons, New York, pp. 327-374.
- DIARTE-PLATA, G. 2007. Cultivo experimental de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835) en la costa Norte de Sinaloa, México. Tesis de Maestría. CIIDIR IPN Sinaloa, Guasave, Sinaloa, México. 100 p.
- DÍEZ-PÉREZ, J. F. & G. RAMÍREZ. 1976. Estudio de las bahías de Ohuira y Topolobampo mediante Landsat. Congreso Nacional de Fotometría, Fotointerpretación y Geodesia. Secretaría de Recursos Hidráulicos. México.
- ESCAMILLA-MONTES, R. 1998. Aspectos de la biología de las jaibas del género *Callinectes* en el Estero El Conchalito, Ensenada de La Paz, B. C. S. Tesis de Maestría. CICIMAR IPN, La Paz, Baja California Sur, México. 100 p.
- ESTRADA-VALENCIA, A. 1999. Aspectos poblacionales de la jaiba *Callinectes arcuatus* (Ordway, 1863) en la laguna de Cuyutlán, Colima, México. Tesis de Maestría. Universidad de Colima, Colima, México. 77 p.
- FISHER, R. 1930. *The genetic theory of natural selection*. Clarendon Press. Oxford, 308 p.
- GIL-LÓPEZ, H. A. & S. SARMIENTO-NÁFATE. 2001. Algunos aspectos biológicos y pesqueros de las jaibas (*Callinectes* spp.) en el sistema lagunar Mar Muerto, Oaxaca-Chiapas. Documento Técnico, Sagarpa, Inapesca, CRIP, Salina Cruz, Oaxaca, 41 p.
- HENDRICKX, E. M. 1984. Estudio de la fauna marina y costera del sur de Sinaloa, México. III Clave de identificación de los cangrejos de la familia Portunidae. (Crustacea: Decapoda). *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. Universidad Nacional Autónoma de México 2 (1): 49- 64.
- HERNÁNDEZ-MORENO, L. A. & J. A. ARREOLA-LIZÁRRAGA. 2007. Estructura de tallas y crecimiento de los cangrejos *Callinectes arcuatus* y *C. bellicosus* (Decapoda: Portunidae) en la laguna costera Las Guásimas, México. *Revista de Biología Tropical* 55 (1): 225-233. DOI: [10.15517/RBT.V55I1.6074](https://doi.org/10.15517/RBT.V55I1.6074)
- HEUPEL, M. R., J. K. CARLSON & C. A. SIMPFENDORFER. 2007. Shark nursery areas: concepts, definition, characterization and assumptions. *Marine Ecology Progress Series* 337: 287-297. DOI: [10.3354/meps337287](https://doi.org/10.3354/meps337287)
- INP (INSTITUTO NACIONAL DE LA PESCA). 1984. Proyecto de producción de jaiba mudada en el sistema abierto y cerrado. División de Investigaciones Acuaculturales. Programas de Maricultura. México. 100 p.
- LÓPEZ-MARTÍNEZ, J., L. LÓPEZ-HERRERA, J. E. VALDEZ-HOLGUÍN & C. H. RÁBAGO-QUIROZ. 2014. Population dynamics of the swimming crabs *Callinectes* (Portunidae) components of shrimp bycatch in the eastern coast of

- the Gulf of California. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 49 (1): 17-29. DOI: 10.4067/S0718-19572014000100003
- MOLINA-OCAMPO, R. E. 2001. Jaiba del estado de Sonora *Callinectes bellicosus*. In: *Sustentabilidad y pesca responsable en México. Evaluación y manejo*. INP/Semarnap. Sonora, México, pp. 329-348.
- MUNRO, J. L. & D. PAULY. 1983. A simple method for comparing the growth of fishes and invertebrates. *Fishbyte* 1 (1): 5-6. Disponible en línea en: http://www.worldfishcenter.org/Naga/FB_1976.pdf
- NEVÁREZ-MARTÍNEZ, M. O., J. LÓPEZ-MARTÍNEZ, C. CERVANTES-VALLE, E. MIRANDA-MIER, R. MORALES-AZPEITIA & M. L. ANGUANO-CARRASCO. 2003. Evaluación biológica y pesquera de las jaibas *Callinectes bellicosus* y *Callinectes arcuatus* (Brachyura: Decapoda: Portunidae) en las bahías de Guásimas y Lobos, Sonora, México. In: M. E. Hendrickx (ed). *Contribuciones al Estudio de los Crustáceos del Pacífico*. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. pp. 143-151.
- PALACIOS-FEST, M. R. 2002. *La jaiba: biología y manejo*. AGT Editor, S. A. México, D. F. México. 120 p.
- PAUL, R. K. G. 1982a. Observations on the ecology and distribution of swimming crabs of the genus *Callinectes* (Decapoda, Brachyura: Portunidae) in the Gulf of California. *Crustaceana* 42 (1): 96-100. DOI: 10.1163/156854082X00731
- PAUL, R. K. G. 1982b. Abundance, breeding and growth of *Callinectes arcuatus* Ordway and *Callinectes toxotes* Ordway (Decapoda: Brachyura: Portunidae) in a lagoon system on the Mexican Pacific Coast. *Estuarine Coast Shelf Science* 14: 13-26. DOI: 10.1016/S0302-3524(82)80064-9
- PAULY, D. 1983. Algunos métodos simples para la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Roma, Italia. *Documento Técnico de Pesca* 234: 49.
- PAULY, D. 1993. Fishbyte section editorial. *NAGA ICLARM Q* 16. 26 p.
- PAULY, D. & J. L. MUNRO. 1984. Once more on the comparison of growth in fish and invertebrates. *Fishbyte* 2 (1): 1-21.
- RAMÍREZ-FÉLIX, E., J. SINGH-CABANILLAS, H. A. GIL-LÓPEZ, S. SARMIENTO-NÁFATE, I. SALAZAR-NAVARRO, G. MONTEMAYOR-LÓPEZ, J. A. GARCÍA-BORBÓN, G. RODRÍGUEZ-DOMÍNGUEZ & N. CASTAÑEDA-LOMAS. 2003. La Pesquería de Jaiba (*Callinectes spp.*) en el Pacífico Mexicano: Diagnóstico y Propuesta de Regulación. CONAPESCA/INAPESCA. Mazatlán, Sinaloa, México. 48 p.
- RAMOS-CRUZ, S. 2008. Estructura y parámetros poblacionales de *Callinectes arcuatus* Ordway, 1863 (Decapoda: Portunidae), en el sistema lagunar La Joya-Buenavista, Chiapas, México. Julio a diciembre de 2001. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 3 (3): 259-268.
- RICKER, W. E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Fishery Bulletin Research Board of Canada* 191: 401 p.
- RODRÍGUEZ, G., S. G. CASTILLO, R. PÉREZ & E. A. ARAGÓN. 2012. Estimation of the individual growth parameters of the brown crab *Callinectes bellicosus* (Brachyura, Portunidae) using a multi-model approach. *Crustaceana* 85: 55-69. DOI: 10.1163/156854012X623700
- RODRÍGUEZ-FÉLIX, D. 2017. Análisis de la estructura poblacional de la jaiba café *Callinectes bellicosus* en la costa de Sonora, y sus implicaciones para el manejo pesquero. Tesis de Doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, Baja California Sur, México. 121 p.
- SALAZAR-NAVARRO, I., V. MACÍAS-SÁNCHEZ & A. RAMOS-GONZÁLEZ. 2002. Estudio biológico pesquero para el manejo sustentable de la pesquería de jaiba *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859) y *C. arcuatus* (Ordway, 1863) en las bahías de: Topolobampo, Navachiste, Santa María la Reforma, ensenada del Pabellón-Altata y Ceuta en las costas de Sinaloa, México. Período: enero de 1999 a diciembre del 2001. In: *Memorias I Foro Científico de Pesca Ribereña*. 17-18 de Octubre de 2002. INP-CRIP, Guaymas, Son., México.
- SALGADO-UGARTE, I. H., J. L. GÓMEZ-MÁRQUEZ & B. PEÑA-MENDOZA. 2005. *Métodos actualizados para análisis de datos biológico-pesqueros*. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Ciudad de México, México. 240 p.
- SASTRY, A. N. 1983. Ecological aspects of reproduction. In: Bliss D. E. (ed). *The Biology of Crustacea*. Academic Press, Nueva York, EEUU, pp. 179-270.
- SEVERINO-RODRÍGUEZ, E., J. MUSIELLO-FERNANDES, A. A. S. MOURA, G. M. P. BRANCO & V. O. C. CANÉO. 2013. Fecundity, reproductive seasonality and maturation size of *Callinectes sapidus* females (Decapoda: Portunidae) in the Southeast coast of Brazil. *Revista Biología Tropical* 61 (2): 595-602. DOI: 10.15517/RBT.V61I2.11162
- SPARRE, P. & S. C. VENEMA. 1997. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1: Manual. FAO Documento Técnico de Pesca 306/1. Roma, Italia.
- VILLARREAL-CHÁVEZ, G., P. G. GONZÁLEZ RAMÍREZ, F. A. GARCÍA-DOMÍNGUEZ, E. F. FÉLIX-PICO & O. HOLGUÍN-QUINONES. 2003. Population biology of *Callinectes bellicosus* (Stimpson 1859) (Decapoda: Portunidae) in Bahía Magdalena lagoon system, México. In: Hendrickx, M.E. (ed). *Contributions to the study of east Pacific crustaceans*, vol 2. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., pp. 169-176.
- WARNER, G. F. 1977. *The biology of crabs*. New York: Van Nostrand Reinhold. 202 p.
- WILLIAMS, A. B. 1974. The swimming crabs of the genus *Callinectes*. *Fishery Bulletin* 72 (3): 685-798.
- ZAR, J. H. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5th ed. New Jersey: Prentice Hall. 663 p.

Reproductive cycle of two *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae) beds at different depths at Ensenada de La Paz, Gulf of California, Mexico

Ciclo reproductivo en dos bancos de *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae) a diferente profundidad en la Ensenada de La Paz, Golfo de California, México

Federico Andrés García-Domínguez¹®, Liliana Carvalho-Saucedo²® and Nurenkaya Vélez-Arellano²®

Recibido: 16 de mayo de 2017.

Aceptado: 10 de noviembre de 2018.

Publicado: 15 de diciembre de 2018.

ABSTRACT

Background: The fat horse mussel *Modiolus capax* is a commercially important resource in northwest Mexico; however, few studies evaluate its reproduction. **Goals:** Compare the reproductive cycle of *M. capax* in two beds at different depths in Ensenada de La Paz, B.C.S., Mexico, and its relationships with the environmental variables. **Methods:** Approximately 25 (± 4.5) specimens were collected between October 2008 and December 2010, in a shallow bed in the intertidal zone (Bed A), and 23 (± 4) at a five meters deep bed (Bed B), in Ensenada de La Paz, B.C.S., Mexico. Monthly assessments of individual biological information were complemented by histological analyses of the gonads at different moments of the reproductive cycle, taking in environmental changes. The size at the first sexual maturity (L_{50}) was estimated using a logistic model to obtain the size at 50% maturity. The relationship between gonad development stages and the gonadosomatic index was estimated, as well as the relationship between these stages with temperature and chlorophyll.

Results: A peak spawning occurred in March in Bed A and in January in Bed B. In both beds, mature and post-spawning females showed follicular atresia, up to 82% in Bed B. The estimated L_{50} was 74.12 mm for Bed A and 71.74 mm for Bed B. The gonadosomatic index differed between beds, and was positively correlated with the increase in chlorophyll-a (Bed A). A significant negative correlation was observed between temperature and the frequency of the maturing stage (Bed A). **Conclusions:** The reproduction of *M. capax* revealed that the beds have a different reproductive periodicity and that environmental changes affect the activity and favor the development of follicular atresia.

Keywords: gonadosomatic index, mussel reproduction, reproductive activity

RESUMEN

Antecedentes: El mejillón *Modiolus capax* es una especie de importancia comercial en el noroeste de México; sin embargo existen pocos trabajos que evalúan su reproducción. **Objetivos:** Comparar el ciclo reproductivo de *M. capax* en dos bancos ubicados a diferentes profundidades en la Ensenada de La Paz, B.C.S., México, y sus relaciones con las variables ambientales. La talla de primera madurez (L_{50}) se estimó utilizando un modelo logístico para obtener el valor de longitud en el que el 50% de la población se encuentran maduros. **Métodos:** Se recolectaron aproximadamente 25 (± 4.5) especímenes, entre octubre de 2008 y diciembre de 2010, en un banco poco profundo de la zona intermareal (Banco A) y 23 (± 4) en un banco superficial profundo (Banco B). El tamaño en la primera madurez sexual (L_{50}) se estimó utilizando un modelo logístico para obtener el tamaño en un 50% de madurez. Las evaluaciones mensuales de la información biológica individual se complementaron con el análisis histológico de las gónadas, en diferentes momentos del ciclo reproductivo. Se estimó la relación entre los estadios de desarrollo gonadal y el índice gonadosomático, también su relación con la temperatura y la clorofila. **Resultados:** Los resultados indican que ocurrió un pico de desove en marzo (Banco A) y en enero en el otro (Banco B). En ambas localidades, las hembras maduras y en post-desove presentaron atresia folicular, hasta el 82% en el banco B. La L_{50} fue de 74.12 mm para el banco A y 71.74 mm para el B. El índice gonadosomático difirió entre bancos y se correlacionó positivamente con el aumento de clorofila-a (Banco A). Se observó una relación negativa significativa entre la temperatura y el estadio de madurez (Banco A). **Conclusiones:** El estudio de la reproducción de *M. capax* reveló que los bancos analizados presentan una periodicidad reproductiva diferente y que los cambios ambientales afectan la actividad reproductiva, favorecieron el desarrollo de atresia folicular.

Palabras claves: actividad reproductiva, índice gonadosomático, reproducción de mejillón

*Author for correspondence:
carvalholiliana@gmail.com

To cite as:
García-Domínguez F. A., L. Carvalho-Saucedo and N. Vélez-Arellano. 2018. Reproductive cycle of two *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae) beds at different depths at Ensenada de La Paz, Gulf of California, Mexico. *Hidrobiológica* 28 (3): 313-323.

DOI:

INTRODUCTION

The Gulf of California is home to little-exploited natural beds of the mussel *Modiolus capax* (Conrad, 1837) with fishery and aquaculture potential; specifically in Mexico, this species is classified as a commercially important fishery resource (López-Carvallo, 2015). This mussel is widely distributed across the eastern tropical Pacific and Gulf of California (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000). There are studies on the habitat and geographical distribution of *M. capax* (Coan & Carlton, 1975; Keen, 1971). In addition, characteristics of different development stages and preference for certain substrates for larval settlement (Aguirre-Hinojosa, 1987; Farfán *et al.*, 2007) have been described with larvae produced in the laboratory (Orduña-Rojas & Farfán, 1991; Farfán *et al.*, 2007). Size structure, growth, and recruitment of two populations living in the Gulf of California have also been investigated, finding variability in both recruitment and size structure (Garza-Aguirre & Bückle-Ramírez, 1989b). Moreover, changes in the reproductive cycle of this species associated with temperature and food availability have been reported (Farfán & Espinoza-Peralta, 1998), as well as differences in the reproductive cycle in different localities (Ochoa-Báez, 1985).

Some species, such as *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758), show significant inter-annual variations in the spawning season associated with environmental changes, which in turn affect larval recruitment (Avendaño *et al.*, 2011). For some bivalves, reproductive periodicity depends on intrinsic factors such as genetic, physiological, and nutritional characteristics, and environmental conditions, which can determine timing and maturation stages, duration, and the synchronous spawning in a given population (Newell *et al.*, 1982). In this regard, mytilids' temperature and food availability are known to influence gonadal development from early stages to gamete release (Bayne, 1976). On the other hand, variations in the production of cultured mussels and other mollusk might be related to inter-annual variations in gonadal development caused by environmental changes (Maeda-Martínez, 2008; Cantillánez *et al.*, 2005). For this reason, the study of reproductive strategies and their relationship with environmental variables could contribute to proper fishery management.

Therefore, the aim of this study is to describe seasonal variations in the reproductive activity and gonadosomatic index of *Modiolus capax* in two beds located at different depths in Ensenada de La Paz, B.C.S., as well as the relationship of these variables with temperature and food availability (using chlorophyll-a as an indicator).

MATERIALS AND METHODS

Specimens were collected at Ensenada de La Paz, Baja California Sur, Mexico, (24.18-240.1 N, -110.31 - 110.41 W), from two beds (A: 24.1725 N, -110.3108 W and B: 24.149283 N, -110.339 W) (Fig. 1). Bed A is a natural bed of *M. capax* in the intertidal zone, in a sandy substrate, with dead coral and sandstones, at a maximum depth of one meter. Bed B comprises an artificial reef created in 1974 on a ship sunk to a depth of five meters (deep surface), serving as substrate for a mussel bed of *M. capax*.

In each locality, water temperature was recorded each month (with a mercury glass thermometer); monthly chlorophyll-a data were used as an indicator of primary productivity, from October 2008 to December 2010; chlorophyll-a concentration in La Paz Bay (24.5 N, 111.5 W) was obtained through the data server "Environmental Research Division's Data Access Program" of the National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA).

Twenty-five (± 4.5) specimens were collected each month at Bed A from October to December 2008; February to November 2009; and January to December 2010 (except March). Also, 23 (± 4) specimens were collected per month at Bed B from October 2008 to November 2009 (except January). Mussels were collected manually with handheld spears using autonomous diving in waters up to five meters.

In the laboratory, shell length (distance between the hinge and the opening of valves), and total wet weight of somatic tissues were recorded for each individual specimen. Gonads were carefully extracted, weighed, and fixed in 10% formalin (Oyarzún *et al.*, 2011). Afterwards, they were dehydrated through a progressive series of ethanol solutions (70 to 100%), cleared with a xylene substitute, and embedded in paraffin. Five micrometer-thick cross sections were stained with hematoxylin and eosin (Humason, 1979). In order to identify gonadal stages within the reproductive cycle, a gonadal maturity scale was established (undifferentiated, early gametogenesis, maturing, spawning, post-spawning, and resorption) based on the criterion of Ochoa-Báez (1985).

In both beds, the relative frequency of gonad maturation stages was determined.

The gonadosomatic index (GI) is determined by the relation $Pg/PS \times 100$, where Pg is gonad wet weight and Ps is total somatic tissue wet weight (Arrieché *et al.*, 2002; Oyarzún *et al.*, 2018).

The data distribution was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefords normality tests. The sex ratio was calculated, and a Chi-square test was used to explore whether differences are statistically significant ($p \leq 0.05$). Data were transformed using the square root arcsine transformation (range between 0% and 100%) (Sokal & Rohlf, 1981). For nonparametric distribution data, a Kruskal-Wallis ANOVA on ranks ($p \leq 0.05$) was used. The establishment of the size at first sexual maturity (L₅₀) was estimated using the logistic model to obtain the length at which 50% of the population was mature. To determine the temporal variations in the GI, means were compared between months and gonad development stages for each bed. Also, mean sizes at each gonad development stage were tested for significant differences for each bed. The correlation of maturation stages (transformed data) and gonad index (transformed data) with size and environmental variables was determined separately using Spearman's correlation coefficient and the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (version 15.0, IBM Company, U.S.).

RESULTS

Gonadal Development Stages. Undifferentiated: germ cells are immature and connective tissue cells are scattered within a matrix; the sex of the specimen cannot be determined. Early gametogenesis: the gonad begins to develop with the appearance of small follicles in the connective tissue, containing few cells at different development stages (Figs 2a-b). Mature: the gonad is fully developed, with round follicles containing mature sex cells, occupying most of the visceral mass (Figs 2c-d). Spawning: follicles release gametes; there might be cases with clear loss of gametes (Figs 2e-f). Post-spawning: follicles contain a lower amount of mature and developing gametes relative to the previous stage. Signs of autolysis and phagocytosis are commonly observed in some areas of the gonad (Figs 2g-h). Resorption: degradation of the gonad, follicles might have residual gametes; the remaining sex



Figure 1. Map of Ensenada de La Paz, Gulf of California, Mexico, indicating the locations of mussel sampling sites. Locality A: Intertidal, maximum depth of one meter; Locality B: Deep surface bed, at five meters deep.

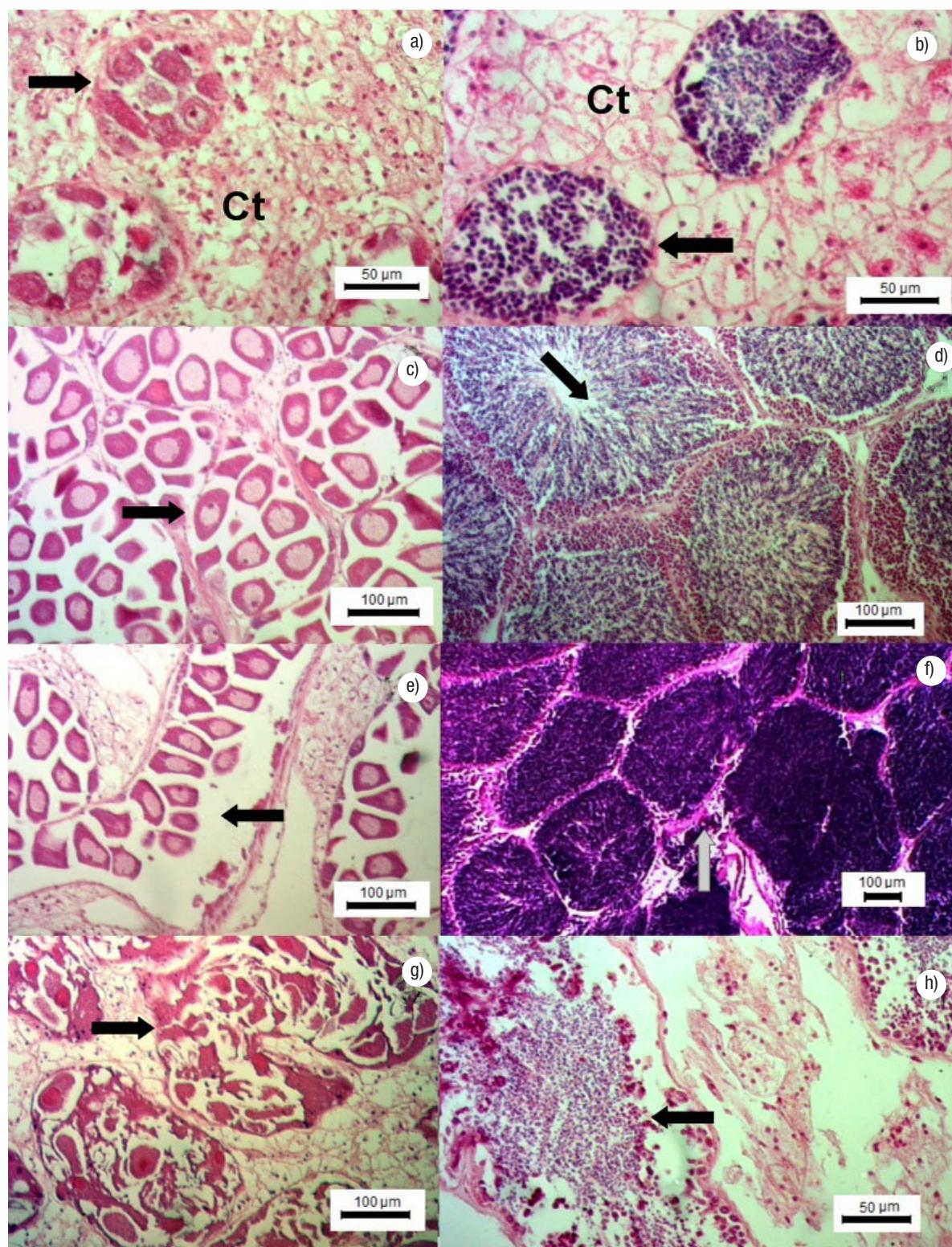
cells and follicle structures are reabsorbed through phagocytosis (Figs 3a-b). A high proportion of mature gonads showed follicular atresia (autolysis) and parasites (Figs 3c-d); with 44% of parasitized males and 43% of parasitized and atretic females in intertidal (Bed A) and 22% of parasitized males and 82% of parasitized and atretic females in Bed B.

Reproductive Period. A total of 276 female, 273 male and 47 undifferentiated were examined from Bed A, and 141 female, 137 male, and 23 undifferentiated from Bed B. The sex ratio did not deviate significantly from 1:1 in both beds (Chi-square test, $p > 0.05$). Regarding the gonad maturation pattern for the same months, differences were noted between beds. The undifferentiated stage was observed in both beds virtually throughout the whole sampling period, with peak frequency in December 2009 (25.9%, Bed A), and in October and November 2009 (16.6%, Bed B) (Figs 4a-b). Gametogenesis was rarely observed, with low percentages in both beds; peak gametogenesis occurred in October 2009 (Bed A: 26.7%; Bed B: 25%) (Figs 4a-b). Maturing was observed in low percentages in both beds; in Bed A, peak maturation was observed in February 2009 and 2010 (7% and 15%, respectively); in Bed B, peak maturation occurred in November 2008 (10%) and May 2009 (10.3%) (Figs 4a-b). Spawning prevailed throughout the whole sampling period in the intertidal-zone and deep-surface beds (Figs. 4A-B). In Bed A, spawning peaked in March 2009 and May 2010 (83.3% and 50%, respectively) (Figs 4a-b); in Bed B, peak spawning occurred in January 2009 (75%) (Figs 4a-b). In both beds, post-spawning and resorption took place throughout the sampling period; in Bed A, peak post-spawning was observed in August 2009 (47.4%) and June 2010

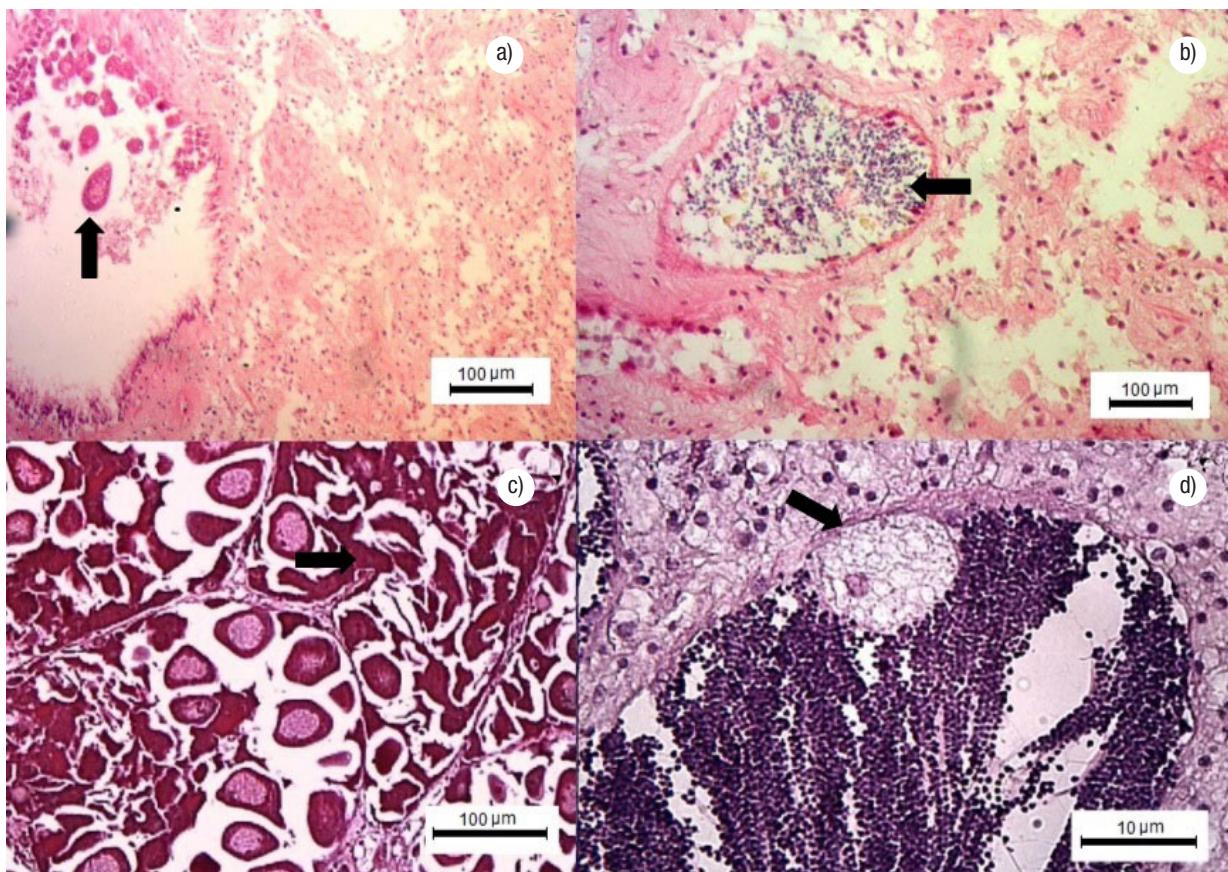
(56.7%); in Bed B, the maximum post-spawning occurred in October 2009 (66.7%) (Figs 4a-b). In Bed A, peak resorption was observed in October 2009 (47.1%) and September 2010 (46.7%); in Bed B, resorption was observed in November 2009 (Figs 4a-b).

The analysis of sizes (length) showed that annual mean (2008–2009) shell length (77.8 ± 1 mm) in Bed A was significantly higher versus Bed B (72.3 ± 1 mm). The L₅₀ estimate for Bed A (74.12 mm) was higher than for Bed B (71.74) (Figs 5a-b); also, reproductive activity started at a smaller length in Bed B (23 mm) than in Bed A (41 mm), and the mean length of the gametogenesis was lower than the other stages of gonadal maturation, 60.3 mm for Bed A and 63.4 mm for Bed B, but it was significant only in Bed A.

Gonadosomatic Index (GI). The GI increased from gametogenesis to mature stages in Bed A and Bed B; in Bed A, the GI in the mature stage (2.4) was significantly higher relative to gametogenesis, spawning, post-spawning, and resorption (1.5, 1.9, 1.9, and 1.4, respectively) (Fig. 6a); in Bed B, the GI in the mature stage (2.3) was significantly higher relative to gametogenesis, and resorption (1.6, and 1.5, respectively); no significant differences were observed versus spawning and post-spawning (GI = 2, in both cases) (Fig. 6a). The GI decreased gradually from spawning to resorption, with the lowest GI values observed in the latter stage (Fig. 6a). Differences in the GI were observed between beds: in Bed A, May 2009 attained significantly higher GI values relative to Bed B; in Bed B, August, September, and October 2009 showed significantly higher GI values than in Bed A (Fig. 6b).



Figures 2a-h. Gonadal development stages in females and males of *Modiolus capax* (Conrad, 1837) in La Paz, B.C.S., Mexico. a) Early gametogenesis in females, follicular development (arrow), (Ct) connective tissue; b) Early gametogenesis in males, follicular development (arrow), (Ct) connective tissue; c) Maturing in females, mature oocyte (arrow); d) Maturing in males, mature follicles (arrows); e) Spawning in females, oocyte spawning (arrow); f) Spawning in males; sperm release (arrow); g) Post-spawning in females, oocyte atresia (arrow); h) Post-spawning in male, sperm (arrow).



Figures 3a-d. Stages of resorption, atretic gonad and parasitized gonad of *Modiolus capax* (Conrad, 1837), in La Paz, B.C.S., Mexico. a) Resorption in females, residual female gamete (arrow); b) Resorption in males, residual gametes (arrow); c) Atretic gonad, oocyte lysis (arrow); d) Male gonad, coccidian parasite (arrow).

Likewise, significant differences were observed between months. In Bed A, the GI increased and showed a single annual peak, in May 2009 (8%) and June 2010 (6.6%); in Bed B, the GI increased to reach a first annual peak in June 2009 (5.7%), then started to rise again in August (7.1%), September (6.7%), and October (7.7%) (Figs 6a-b). All peaks were significantly higher than the GI of the remaining months (transformed data).

In Bed A, the GI was correlated with maturing. The GI rose in parallel with maturing frequency (arch-sine) (Bed A); Spearman's correlation coefficient was $p = 0.798$, $p < 0.01$.

In both beds, resorption frequency (arcsin) was negatively correlated with GI, i.e. the GI decreases as resorption frequency increases. Spearman's correlation coefficient was $p = -0.521$ for Bed A ($p < 0.05$), and $p = -0.555$ for Bed B ($p < 0.05$).

Environmental variables. Both beds recorded a drop in temperature from October to February (2008 and 2009), followed by a rise that peaked in October 2009. No significant differences were observed between beds; however, Bed A showed higher temperatures than Bed B, with maximum and minimum temperatures of 30.3 °C and 17.4 °C in Bed A, and 28.7 °C and 19.2 °C in Bed B. In both beds, maximum temperatures were recorded in October, and minimum temperatures in February (Figs 7a-b). In Bed A, maturing frequency was directly correlated with temperature, and the frequency of specimens in the maturing stage decreased with temperature from 17 °C to 30 °C; Spearman's correlation coefficient was $p = -0.709$ ($p < 0.05$). Peak chlorophyll values occurred in May 2009 (3.48 mg/m³) in intertidal-zone and five meters deep beds; a new increase in chlorophyll-a (3.42 mg/m³) was observed in June 2010 (Bed A). Minimum chlorophyll-a concentrations were observed in both beds in September 2009 and September 2010 (0.56 and 0.6 mg/m³, respectively) (Figs 7a-b).

A relationship was observed only in Bed B between chlorophyll-a (mg/m³) and post-spawning, where the frequency of post-spawning specimens decreased as chlorophyll-a (mg/m³) increased; Spearman's correlation coefficient was $p = -0.555$ ($p < 0.05$).

The gonadosomatic index and chlorophyll-a increased during May and June in Bed A (2009 and 2010) (Figs 7a-b); Spearman's correlation coefficient was $p = 0.515$ ($p < 0.05$).

DISCUSSION

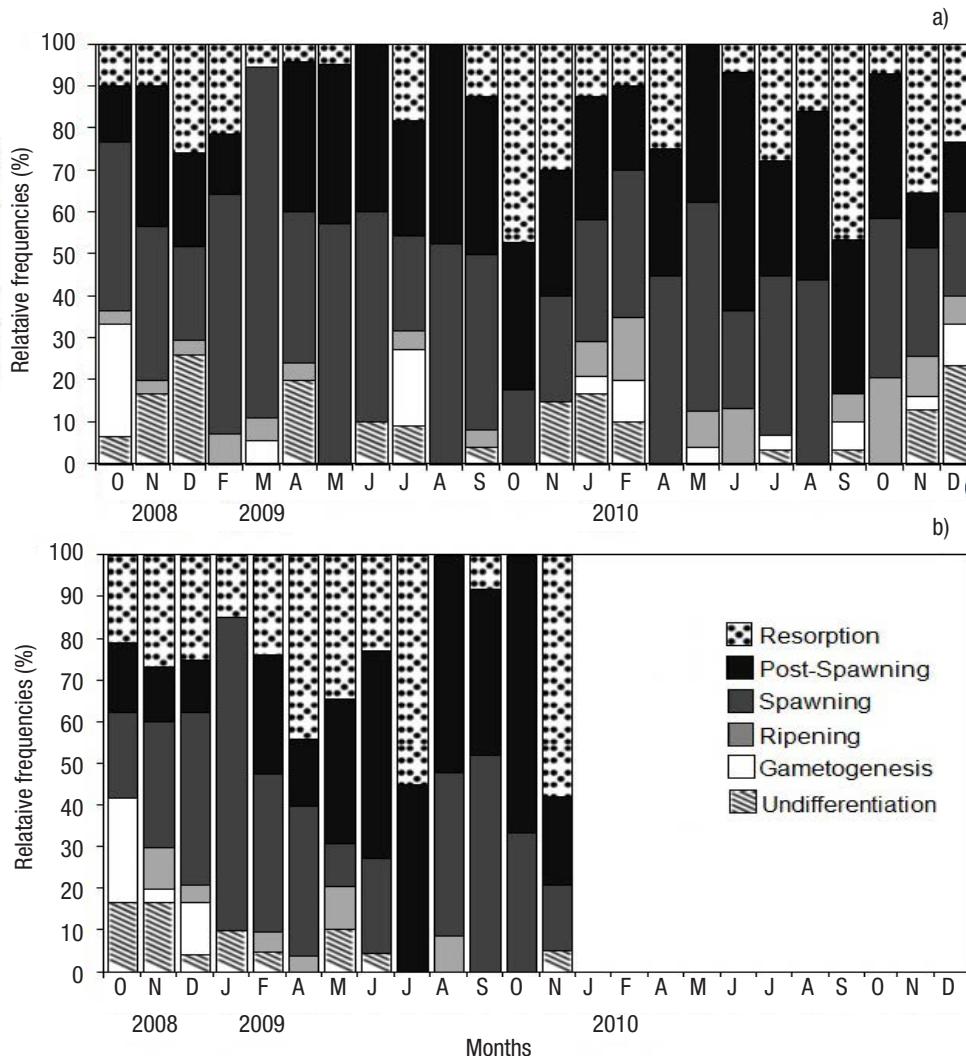
It has been reported that the reproductive cycle of *Modiolus capax* produces gametes continuously throughout the year (Ochoa-Baez, 1985; Garza-Aguirre & Bückle-Ramírez, 1989a), which coincides with the results reported here. However, the peak spawning (March 2009 and May

2010 in Bed A and January 2009 in Bed B) was not consistent with the findings reported for *M. capax* in other studies, where peak spawning was observed in the summer (June-August), indicating gamete release increases with the rise in temperature (Ochoa-Baez, 1985; Garza-Aguirre & Buckle-Ramírez, 1989a). Likewise, this study revealed differences in the gonad maturation pattern between beds. In this regard, environmental conditions have been described as factors that determinate the reproductive behavior of bivalves, even to the extent of modifying the reproductive periodicity (Ruiz *et al.*, 1992). Accordingly, the differences in the spawning season between beds reflects the influence of the environment on gonad activity in *Modiolus capax*, especially considering Ochoa-Baez's study (1985) in the same locality, which took place during the 1983-1984 El Niño event, while Garza-Aguirre & Buckle-Ramírez's study (1989b) was conducted in a locality where lower temperatures were reported (<15 °C) in contrast to those observed in this study.

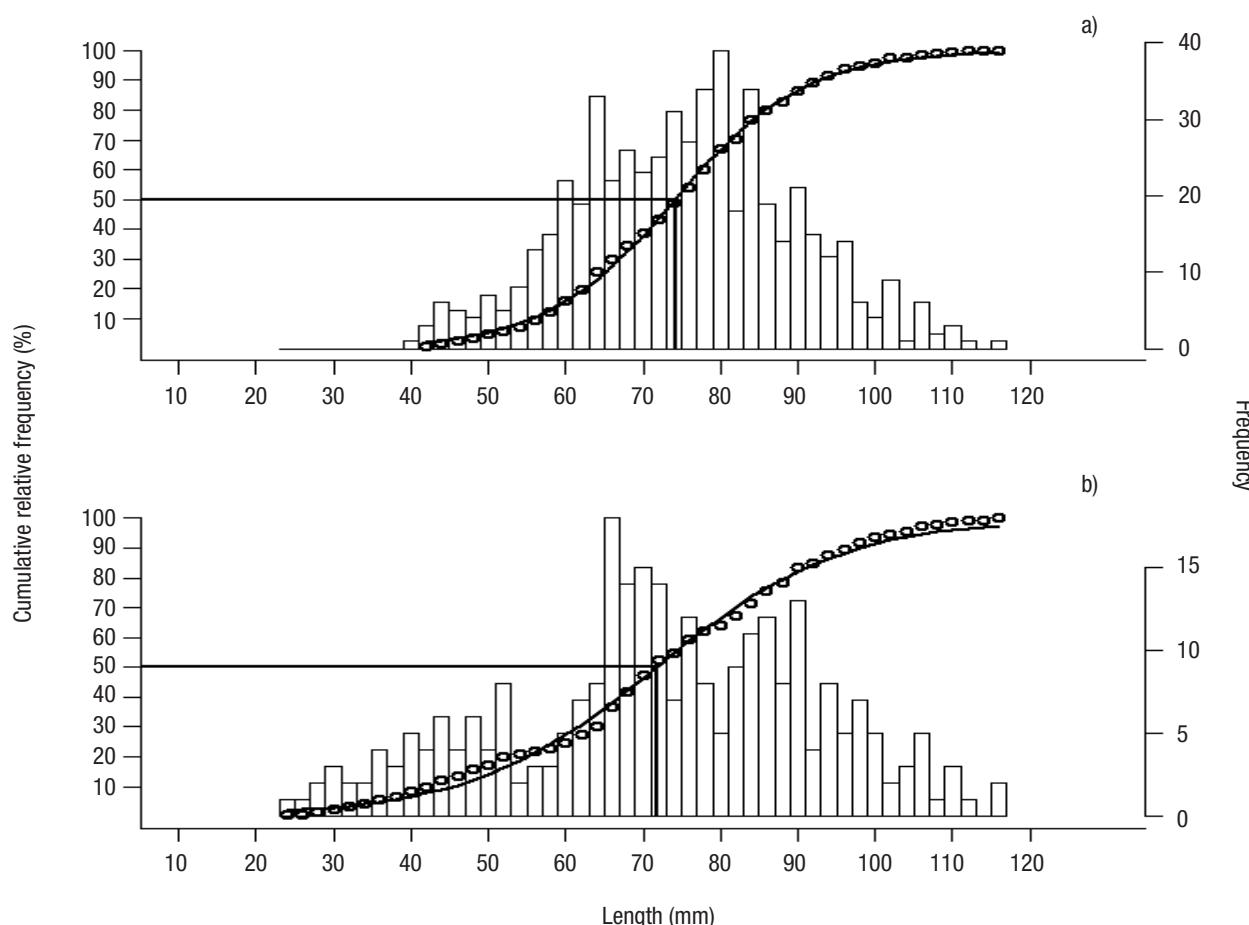
On the other hand, the analysis of gonad development in specimens from the two beds showed a continuous gamete release almost all year, but the peak spawning recorded in March 2009 in Bed A (83%)

and January 2009 in Bed B (75%) suggests a spawning synchronization in the population when the temperature was approximately 20 °C and the chlorophyll-a concentration was 2.9 mg/m³ in both beds. The above could indicate that these environmental conditions are optimal for reproduction. Spawning activity as a result of environmental changes, characterized by both scattered spawnings and a major spawning, has been described previously for *M. edulis* (Duinker *et al.* 2008). This event has also been reported in other mytilids such as *Modiolus barbatus* (Linnaeus, 1758) and *Mytilus chilensis* (Hupé, 1954), in which the asynchrony of spawning varied between localities due to environmental differences (Mladineo *et al.*, 2007; Oyarzún *et al.*, 2011).

Temperature and food availability have been mentioned as factors that influence the reproductive process of bivalves (Bayne, 1976). Under similar environmental conditions, differences between sexes regarding energy requirements during gonad maturation have been reported for *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) (Matus de la Parra *et al.*, 2005); in this regard, laboratory studies report that in bivalve *Tapes (Ruditapes)*



Figures 4a-b. Relative frequency by gonad development stage of *Modiolus capax* (Conrad, 1837) living in La Paz, B.C.S., Mexico, from two beds with different depth. a) Intertidal bed; (b) five meters deep bed.



Figures 5a-b. Size at first maturity in *Modiolus capax* (Conrad, 1837) living in La Paz, B.C.S., Mexico. a) Intertidal bed; (b) five meters deep bed.

decussatus (Linnaeus, 1758), a low food intake reduces abundance of mature females but not of mature males (Delgado & Pérez-Camacho, 2005). In males of *Perna perna* (Linnaeus 1758), gonad development apparently takes place faster and involves less energy expenditure in males than in females (Arrieche *et al.*, 2002). Thus, it seems clear that some males of *M. capax* in the population remain reproductively active most of the year, allowing a period of synchronous population spawning when females are ready to reproduce.

Another difference was the high percentage of annual post-spawning and resorption observed in both beds. In *Mytilus edulis* and *Mytilus chilensis*, it was found that a presence of post-spawning in the reproductive cycle was followed by a period of follicular resorption that prepares the organisms for a new gonad development cycle (Newell *et al.*, 1982; Oyarzún *et al.*, 2011). Yet, although during 2010 this behavior (onset of gametogenesis after resorption) was observed, in 2009, the maturing stage in both beds was low, and from June to November of that year there was a high percentage of post-spawning with follicular atresia, resorption, and undifferentiating stages; this period coincided with a lower chlorophyll-a concentration and a temperature rise of up to 30 °C. Thorarinsdóttir and Gunnarsson (2003) indicate that when *Mytilus edulis* has low carbohydrate reserves, gamete development might be-

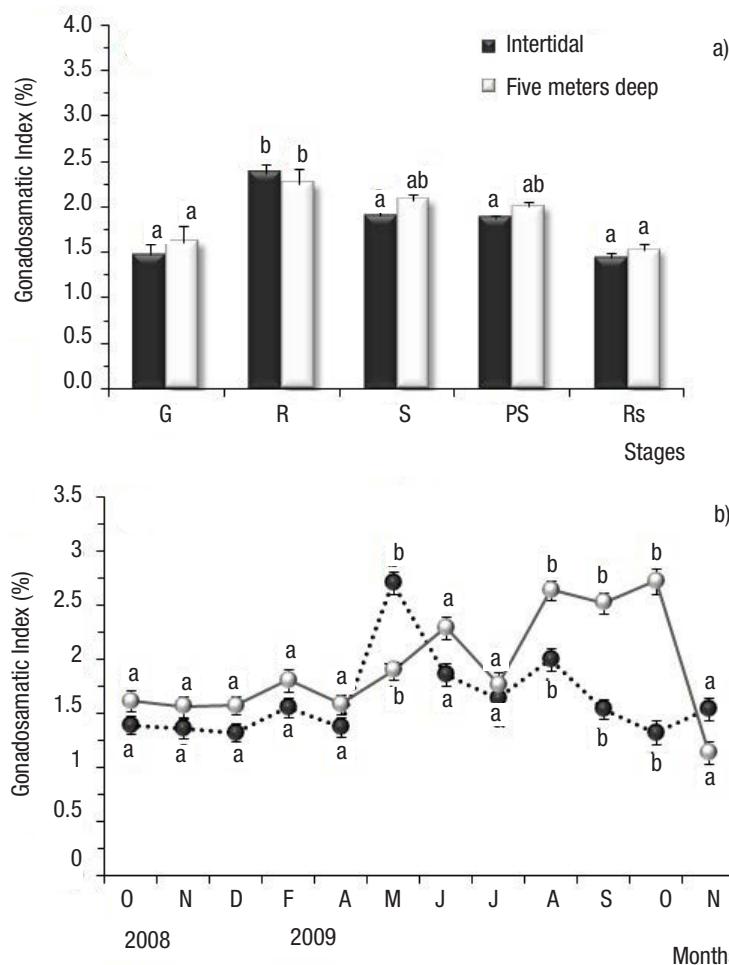
gin but did not reach successful gonad maturation. Newell *et al.* (1982) point out that variations in temperature are one of the main variables that influence spawning, while gametogenesis seems to be governed by food availability. This suggests that gamete development (to term) in *M. capax* depends on food availability and an optimum temperature range; otherwise, oocytes undergo follicular atresia as a result of poor viability. This was described by Newell *et al.* (1982) for various populations of *Mytilus edulis*. On the other hand, Suárez-Alonso *et al.* (2007) indicate that when nutrients are scarce and under adverse temperature conditions, females of *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) show follicular atresia followed by gamete resorption as a strategy to recycle energy reserves for subsequent gonad maturation when conditions become favorable. The high GI value in post-spawning specimens was probably due to the large number of atretic follicles in post-spawning specimens (up to 82%). Ángel-Pérez *et al.* (2007) mentions that gonadal atresia is common in species in which gametogenesis is controlled by environmental conditions. In this regard, Fearman *et al.* (2009) report that *M. edulis* is unable to complete gonad maturation when the temperature rises and there is food scarcity. In particular, *M. capax* has been reported as a species with a low retention of mature gametes, which are reabsorbed when they are not released (Farfán & Espinoza-Peralta,

1998). This implies that resorption responds not only to environmental conditions, but also to the genetics of this species. Additionally, although follicular atresia tends to be driven by environmental events, such as food scarcity and unfavorable temperatures, in this study we observed a high abundance of parasites in gonads, which might have also affected follicular atresia. In mussels, the reproductive status is known to be affected not only by environmental variables but also by diseases (Bignell *et al.*, 2008).

The gonadosomatic index (both beds) observed in each gonadal development stage revealed a steady growth of the gonad during gametogenesis, with maximum growth during the maturing stage, followed by progressive reduction in gonad size, which is most noticeable during resorption; this finding coincides with the one reported by Garza-Aguirre and Bückle-Ramírez (1989a) for *M. capax*, *i.e.*, the GI increases with gonad maturing.

The mean size (shell height and length) associated with the gonadal development stages in both beds evidenced that organisms in the early gametogenesis stage were of small size (less than 70 mm). It was

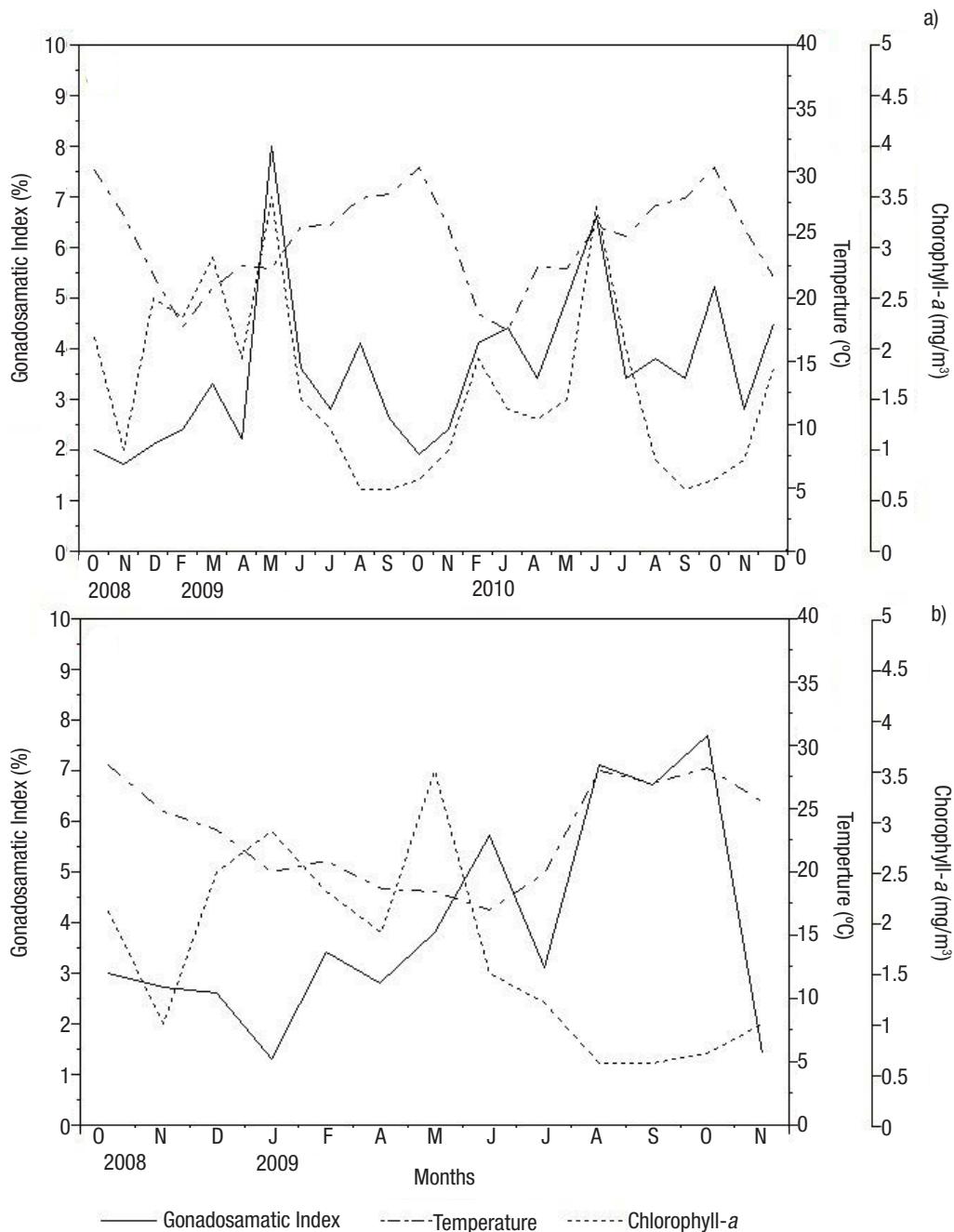
also noted that mussels larger than 71.6 mm in length are capable of spawning. Although the average length of specimens showing early gametogenesis in both locations was the smallest, we are not sure if these smaller mussels had completed the maturation process. In this regard, Rodhouse *et al.* (1986) notes that *M. edulis* increases in body size (height and weight) during the first 3 years of life, and afterwards an increase in gonad maturation is observed. For this same species, Delmont and Edds (2014) reported in the zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) that onset of gametogenesis might vary according to the locality, although this did not occur in mussels smaller than 5 cm in shell length, as these were very young. The above suggests that in general, the specimens showing early gametogenesis analyzed in this study were young mussels that were undergoing gonad development for the first time. Ochoa-Báez (1985) mentions that the recruitment of mature *M. capax* occurs at 30 mm to 40 mm in length, with peak reproductive performance between 60 mm and 100 mm in length (+2 years old), at a mean temperature of 32 °C. Garza-Aguirre and Bückle-Ramírez (1989a) report that in *M. capax* beds living in the intertidal zone, no gametogenic activity was observed in mussels under 43 mm in length,



Figures 6a-b. Mean Gonadosomatic Index (GI) of *Modiolus capax* (Conrad, 1837) living in La Paz, BCS, Mexico, from two beds with different depths. Values are means \pm SD. (transformed data). a) Gonad development stages; b) Monthly GI by locality (transformed data). Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$). G: early gametogenesis, R: maturing, S: spawning, PS: post-spawning, Rs: resorption. undifferentiated, early gametogenesis, maturing, spawning, post-spawning, and resorption.

and that gametogenesis is delayed at temperatures between 15 °C and 25 °C, and progresses at a faster rate at temperatures higher than 26 °C. Based on the above, we can infer that in *M. capax*, the size at the onset of gonad maturation, as well as the reproductive periodicity, will differ between localities, largely depending on environmental variables (such as temperature and food availability), which are modified by habitat and depth. This was confirmed by the differences in sizes found

between the intertidal site and at the five meters deep. This influence of environmental characteristics on growth and the gonad development response (different reproductive peaks) in *M. capax* provide evidence that reproductive capacity and its timing may differ in each locality. For this reason, we recommend the development of specific management strategies for each bed as a precautionary measure to preserve resource sustainability.



Figures 7a-b. Relationship of the monthly gonadosomatic index of *Modiolus capax* (Conrad, 1837) with temperature and chlorophyll-a concentration, from October 2008 to December 2010, in La Paz, B.C.S., Mexico. a) Intertidal bed; (b) five meters deep bed.

In addition, knowing the temperature ranges within which this species achieves maturation is important in aquaculture, e.g. in the production of seed and the definition of culture areas, thus avoiding conditions that promote the onset of gonad maturation at small sizes. In other mollusks, it has been reported that early reproduction leads to a lower growth rate, due to the higher demand of metabolic energy for gonad development (Kanazawa & Sato, 2008).

This study shows that, in spite of the continuous reproductive activity in *Modiolus capax*, there are differences in gonad development between beds, which result in a narrow reproductive peak that varies between the beds, possibly triggered by environmental conditions (temperature and food availability) that are optimum for the reproduction of *M. capax*. Similarly, we observed that environmental variables influence the size at onset of gametogenesis and maturity, as well as the interruption of the reproductive process (evidenced by high follicular atresia).

ACKNOWLEDGMENTS

We appreciate the financing granted by CICIMAR, IPN, # 20,100,877 (internal project), and to CONACyT, PNPC, for the economic support for the postdoctoral stay (2010-2012). We also wish to thank the Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA) at the Instituto Politécnico Nacional for the exclusivity grant awarded to F. García-Domínguez. Our gratitude goes to María Elena Sánchez Salazar for the edition of the English manuscript.

REFERENCES

- AGUIRRE-HINOJOSA, E. 1987. *Análisis de la fijación, crecimiento y sobrevivencia del mejillón Modiolus capax* (Conrad) (Bivalvia-Mytilidae) durante el desarrollo de una comunidad. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada Baja California. México. 106 p.
- ÁNGEL-PÉREZ, C., S. J. SERRANO-GUZMÁN & M. A. AHUMADA-SEMPOL. 2007. Ciclo reproductivo del molusco *Atrina maura* (Pterioidea: Pinnidae) en un sistema lagunar costero, al sur del Pacífico Tropical Mexicano. *Revista de Biología Tropical* 55: 839-852. DOI: 10.15517/rbt.v55i3-4.5960
- ARRIECHE D., B. LICET, N. GARCÍA, C. LODEIROS & A. PRIETO. 2002. Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del morro de Guarapo, Venezuela. *Interciencia* 27: 613-619.
- AVENDAÑO, M., M. CANTILLANÉZ, M. LE PENNEC, C. VARELA & C. GARCÍAS. 2011. Distribución temporal de larvas de *Mytilus chilensis* (Hupé, 1954) (Mollusca: Mytilidae), en el mar interior de Chiloé, sur de Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research* 39: 416-426. DOI: 10.4067/S0718-560X2011000300003
- BAYNE, B. 1976. The biology of mussel larvae. In: Bayne, B. L. (ed). *Marine mussels: their ecology and physiology*. London: Cambridge. pp. 81-120.
- BIGNELL, J. P., M. J. DODGE, S. W. FEIST, B. LYONS, P. D. MARTIN, N. G. H. TAYLOR, D. STONE, L. TRAVERAVENT & G. D. STENTIFORD. 2008. Mussel histopathology: effects of season, disease and species. *Aquatic Biology* 2: 1-15. DOI: 10.3354/ab00031
- CANTILLÁNEZ, M., M. AVENDAÑO, G. THOUZEAU & M. LE PENNEC. 2005. Reproductive cycle of *Argopecten purpuratus* (Bivalvia: Pectinidae) in La Rinconada marine reserve (Antofagasta, Chile): response to environmental effects of El Niño and La Niña. *Aquaculture* 246: 181-195. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.12.031
- COAN, E. V. & J. T. CARLTON. 1975. Phylum Mollusca: Bivalvia. In: Light S. F., R. I. Smith & J. T. Carlton (eds). *Light's manual; intertidal invertebrates of the central California coast*. California: Berkeley. pp. 543-578.
- DELGADO, M. & A. PÉREZ-CAMACHO. 2005. Histological study of the gonadal development of *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: Bivalvia) and its relationship with available food. *Science Marine* 69 (1): 87-97. DOI: 10.3989/scimar.2005.69n187
- DE LA ROSA-VÉLEZ, J., B.C. FARFÁN & M.A. CERVANTES-FRANCO. 2000. Geographic pattern of genetic variation in *Modiolus capax* (Conrad, 1837) from the Gulf of California. *Ciencias Marinas* 26: 585-606. Available on line at: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48002603>
- DELMOTT, S. E. & D. R. EDDS. 2014. Zebra mussel maturation and seasonal gametogenesis in Marion Reservoir, Kansas, USA. *BioInvasions Records* 3 (4): 247-260. DOI: 10.3391/bir.2014.3.4.06
- DUINKER, A., L., HALAND, P. HOVGAARD & P. MORTENSEN. 2008. Gonad development and spawning in one and two year old mussels (*Mytilus edulis*) from Western Norway. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 88 (7): 1465-1473. DOI: 10.1017/S0025315408002130
- FARFÁN, B. C. & A. M. ESPINOZA-PERALTA. 1998. Dilación del desove de *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae). *Revista de Biología Tropical* 46: 633-641.
- FARFÁN, B. C., M. ROBLES-MURGARAY & S. J. SERRANO-GUZMÁN. 2007. Seed production and growth of *Modiolus capax* Conrad (Bivalvia: Mytilidae) in laboratory conditions. *Journal of Shellfish Research* 26 (4):1075-1080. DOI: 10.2983/0730-8000(2007)26[1075:SPAGOM]2.0.CO;28000%
- FEARMAN, J., C. BOLCH & N. MOLTSCHANIWSKYJ. 2009. Energy storage and reproduction in mussels, *Mytilus galloprovincialis*: The influence of diet quality. *Journal of Shellfish Research* 28 (2): 305-312. DOI: 10.2983/035.028.0212
- GARZA-AGUIRRE M. & L. F. BÜCKLE-RAMÍREZ. 1989a. Ciclo reproductivo del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1837) (Bivalvia, Mytilidae, Anisomyaria) en la Bahía de Los Ángeles, Baja California, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México* 16: 157-170.
- GARZA-AGUIRRE M. & L. F. BÜCKLE-RAMÍREZ. 1989b. Estructura de tallas, reclutamiento y crecimiento del mejillón *Modiolus capax* (Conrad) (Bivalvia- Mytilidae) en la Bahía de Los Ángeles, Baja California, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México* 16: 245-254.
- HUMASON, G. L. 1979. *Animal tissue techniques*. W.H. Freeman and Company, San Francisco. 661 p.

- KANAZAWA, T. & S. SATO. 2008. Environmental and physiological controls on shell microgrowth patterns of *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) from Japan. *Journal of Molluscan Studies* 74 (1): 89-95. DOI: [10.1093/mollus/eym049](https://doi.org/10.1093/mollus/eym049)
- KEEN, A. M. 1971. *Sea shells of tropical West America, marine mollusks from Baja California to Peru*. Stanford University Press. California: Stanford. 84 p.
- LÓPEZ-CARVALLO, J. A. 2015. Efecto de la temperatura y alimentación en la maduración sexual del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1837) en condiciones de laboratorio. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. México. 102 p.
- MAEDA-MARTÍNEZ, A. N. 2008. Estado actual del cultivo de bivalvos en México. In: Lovatelli, A., A. Farías & I. Uriarte (eds). *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Taller Técnico Regional de la Región de los Lagos: Puerto Montt. pp. 91-100.
- MATOS DE LA PARRA, A., O. GARCÍA & F. SAN JUAN. 2005. Seasonal variations on the biochemical composition and lipid classes of the gonadal and storage tissues of *Crassostrea gigas* (Thunberg 1974) in relation to the gametogenic cycle. *Journal of Shellfish Research* 24 (2): 457-467. DOI: [10.2983/0730-8000\(2005\)24\[457:SVOTBC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2005)24[457:SVOTBC]2.0.CO;2)
- MLADINEO, I., M. PEHARDI, S. ORHANOVIC, J. BOLOTIN, M. PAVELA-VRANČIĆ & B. TREURSIĆ. 2007. The reproductive cycle, condition index and biochemical composition of the horse-bearded mussel *Modiolus barbatus*. *Helgoland Marine Research* 61:183-192. DOI: [10.1007/s10152-007-0065-8](https://doi.org/10.1007/s10152-007-0065-8)
- NEWELL, R. I. E., T. J. HILBISH, R. K. KOEHN & C. J. NEWELL. 1982. Temporal variation in the reproductive cycle of *Mytilus edulis* (Bivalvia, Mytilidae) from localities on the East Coast of North America. *Biological Bulletin* 162: 299-310. DOI: [10.2307/1540985](https://doi.org/10.2307/1540985)
- OCHOA-BÁEZ, R. I. 1985. Antecedentes sobre el ciclo de reproducción de *Modiolus capax* (Conrad, 1837) (Bivalvia: Mytilidae); en la Bahía de La Paz, Baja California, México. *Investigaciones Marinas CICIMAR* 2 (2): 86-103.
- ORDUÑA-ROJAS, J. & B. C. FARFÁN. 1991. Induced spawning and ontogeny of *Modiolus capax* Conrad (Bivalvia: Mytilidae). *The Veliger* 34: 302-308.
- OYARZÚN, P. A., J. E. TORO, R. JARAMILLO, R. GUÍÑEZ, C. BRIONES & M. ASTORGA. 2011. Ciclo gonadal del chorito *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mytilidae) en dos localidades del sur de Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research* 39 (3): 512-525. DOI: [10.3856/vol39-issue3-f-11text-11](https://doi.org/10.3856/vol39-issue3-f-11text-11)
- OYARZÚN, P. A., J. E. TORO, J. GARCÉS-VARGAS, J. ALVARADO, C. GUÍÑEZ, R. JARAMILLO, C. BRIONES & B. CAMPOS. 2018. Reproductive patterns of mussel *Perumytilus purpuratus* (Bivalvia: Mytilidae), along the Chilean coast: Effects caused by climate change? *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 98 (2): 375-385. DOI: [10.1017/S0025315416001223](https://doi.org/10.1017/S0025315416001223)
- RODHOUSE, P. G., J. H. McDONALD, R. E. NEWEL & R. K. KOEHN. 1986. Gamete production, somatic growth and multiple-locus enzyme heterozygosity in *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 90 (2): 209-214. DOI: [10.1007/BF00569129](https://doi.org/10.1007/BF00569129)
- RUIZ, C., M. ABAD, F. SEDANO, O. GARCÍA-MARTÍN & J. L. SÁNCHEZ-LÓPEZ. 1992. Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 155 (2): 249-262. DOI: [10.1016/0022-0981\(92\)90066-J](https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90066-J)
- SOKAL, R. R. & J. F. ROHLF. 1981. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman and Company, San Francisco. 859 p.
- SUÁREZ-ALONSO, P., C. ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, P. MOLIST-GARCÍA & F. SAN JUAN-SERRANO. 2007. Atresia gonadal durante el ciclo gametogénico de *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 cultivado en la ría de Vigo (noroeste de la península Ibérica). *Boletín Instituto Español de Oceanografía* 23 (1-4): 3-10. TAKU, K. & S. SATO. 2008. Environmental and physiological controls on shell microgrowth patterns of *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) from Japan. *Journal of Molluscan Studies* 74 (1): 89-95. DOI: [10.1093/mollus/eym049](https://doi.org/10.1093/mollus/eym049)
- THORARINSDÓTTIR, G. G. & K. GUNNARSSON. 2003. Reproductive cycles of *Mytilus edulis* L. on the west and east coasts of Iceland. *Polar Research* 22: 217-223. DOI: [10.3402/polar.v22i2.6456](https://doi.org/10.3402/polar.v22i2.6456)

Ciclo reproductivo de la almeja roñosa *Chione undatella* en las costas de la región minera de Santa Rosalía, Baja California Sur, México

Reproductive cycle of venus clam *Chione undatella* in the coasts of the Santa Rosalía mining region, Baja California Sur, Mexico

Ce Acatl Arce-Peinado¹, Marcial Arellano-Martínez¹*, y Bertha Patricia Ceballos-Vázquez¹**

Recibido: 11 de septiembre de 2018.

Aceptado: 28 de noviembre de 2018.

Publicado: 18 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: Los organismos responden a cambios en el medio ambiente, por ello el proceso reproductivo de un organismo puede verse afectado como consecuencia de la contaminación. *Chione undatella* es un recurso potencial pesquero y de cultivo que se ha explotado durante muchos años de forma intensiva en la costa del Pacífico mexicano. **Objetivos:** El principal objetivo del estudio fue caracterizar el ciclo reproductivo y la temporalidad del desove, así como la talla de primera madurez y determinar si existen daños tisulares que puedan tener efectos adversos en la reproducción de *C. undatella* provocados por la contaminación presente en el puerto minero de Santa Rosalía, Golfo de California. **Métodos:** A través del análisis histológico, del índice de condición (ICG) y de parámetros ambientales, se evaluaron aspectos de salud y de la biología reproductiva de la almeja roñosa en la zona costera del puerto de Santa Rosalía. **Resultados:** *C. undatella* presenta actividad reproductiva durante todo el año, sin que ello se asocie con la concentración de clorofila-a ni con la temperatura. Se encontró una correlación inversa entre el ICG y la fase de desarrollo de mayor frecuencia (madurez) en hembras. La talla de primera madurez es de 57 mm LC. En el tejido gonadal (> 80% de los individuos) se observó una infiltración de células eosinófilas en todas las fases de desarrollo gonádico, con una intensidad que osciló de intermedia a abundante (> 60% de los organismos). **Conclusiones:** A pesar de que *C. undatella* presenta actividad reproductiva todo el año, la gran prevalencia de infiltraciones hemocíticas en el tejido gonadal sugiere una potencial deficiencia en su reproducción. Es importante hacer más estudios para confirmarlo y para determinar su relación con la contaminación presente en la zona.

¹ Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Avenida Instituto Politécnico Nacional s/n, col. Playa Palo de Santa Rita. La Paz, Baja California Sur, 23096. México

*Author for correspondence:
bceballo@ipn.mx

Palabras clave: biología reproductiva, contaminación, índice de condición, infiltración, talla de primera madurez

To cite as:

Arce-Peinado C. A., M. Arellano-Martínez y B. P. Ceballos-Vázquez. 2018. Ciclo reproductivo de la almeja roñosa *Chione undatella* en las costas de la región minera de Santa Rosalía, Baja California Sur, México. *Hidrobiológica* 28 (3): 325-334.

DOI:

ABSTRACT

Background: The organisms respond to changes in the environment, hence the reproductive process of an organism can be affected as a result of contamination. *Chione undatella* is a potential resource for fishing and cultivation, which has been intensively exploited for many years on the Mexican Pacific coast. **Goals:** The main objective of this study was to characterize the reproductive cycle and spawning temporality, estimate the size at first maturity, and determine if there is tissue damage that may have adverse effects on reproduction of *C. undatella* because of the contamination found in the mining port of Santa Rosalía, Gulf of California. **Methods:** Through histological analysis, the general condition index (GCI), and environmental parameters, we evaluated aspects of the reproductive biology and health of the frilled venus clam from the coastal area of the port of Santa Rosalía. **Results:** *C. undatella* has reproductive activity throughout the year, unrelated to the concentration of chlorophyll-a, or to temperature. An inverse correlation was found between the GCI and the phase of development with higher frequency in females. The size at first maturity is 57 mm LC. In the gonadal tissue (> 80% of the individuals) an infiltration of eosinophilic cells was observed in all phases of gonadal development with an intermediate to abundant intensity (> 60% of the organisms). **Conclusions:** Although *C. undatella* has reproductive activity throughout the year, the high prevalence of hemocytic infiltration in the gonadal tissue suggests a potential deficiency in its reproduction. We recommend more studies be undertaken to confirm this preliminary finding and determine the relationship of the deficiency with the contamination present in the area.

Keywords: condition index, contamination, infiltration, reproductive biology, size at first maturity

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre biología reproductiva que abordan aspectos como la temporalidad del desove y la talla de madurez sexual aportan información muy útil para propiciar un mejoramiento en el manejo pesquero (Stearns, 2000), además, son de los aspectos de mayor importancia para profundizar en el conocimiento de la dinámica poblacional (Jennings *et al.*, 1999).

En general, los ciclos reproductivos de los invertebrados marinos responden a cambios en el medio ambiente; entre los más importantes, están la temperatura y la disponibilidad de alimento (Darriba *et al.*, 2004; Dridi *et al.*, 2007; Enríquez-Díaz *et al.*, 2009). Sin embargo, el proceso reproductivo también puede verse afectado como consecuencia de cambios en un medio marino contaminado (Vaschenko *et al.*, 2013). En la región costera del golfo de California el ambiente sedimentario del puerto de Santa Rosalía es receptor y fuente de contaminantes inorgánicos; se han comprobado anomalías positivas de concentración de elementos no esenciales en los sedimentos de dicha zona, con potencial de toxicidad y bio-concentración (Shumilin *et al.*, 2000; Rodríguez-Figueroa *et al.*, 2009; Shumilin *et al.*, 2011; Shumilin *et al.*, 2012; Shumilin *et al.*, 2013). Precisamente, en ese puerto minero se reportó recientemente una deteriorada condición de salud en las góndadas de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Yee-Duarte *et al.*, 2018). Lo anterior demuestra que es posible llegar a inducir cambios patológicos en los bivalvos, los cuales, por ser organismos filtradores, suelen ser más susceptibles a los agentes ambientales, donde las anomalías en los tejidos como la presencia de granulocitomas o lesiones constituidas principalmente por granulocitos (Lowe & Moore, 1979) tienen relevancia diagnóstica como biomarcadores de exposición a la contaminación (Neff *et al.*, 1987; Aufré, 1988; Villalba *et al.*, 1997; Usheva *et al.*, 2006; Kim & Powell, 2007; Garmendia *et al.*, 2011). Algo parecido ocurre con la inflamación, pues a pesar de ser parte funcional de la respuesta inmune de un organismo (Muller, 2003), también se ha analizado su posible uso como biomarcador en exposiciones a los contaminantes, tanto agudas como subletrales a largo plazo (Garmendia *et al.*, 2011).

La almeja roñosa *Chione undatella* (Sowerby, 1835) es un recurso potencial pesquero y de cultivo que se ha explotado intensivamente durante mucho tiempo con poca o ninguna regulación, en la costa del Pacífico mexicano (Arizpe-Covarrubias, 1992). Esta almeja forma bancos en áreas someras y se entierra a poca profundidad en fondos blandos de sedimentos finos (Fisher *et al.*, 1995), lo que la hace de fácil acceso. En este trabajo se estudió una población de la almeja roñosa y se determinó su ciclo reproductivo, su temporalidad de desove y su talla de primera madurez. Adicionalmente, se reporta una anomalía en el tejido gonadal que podría estar asociada con la exposición a los contaminantes presentes en el área costera de Santa Rosalía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos mensuales en un ambiente costero adyacente al puerto minero de Santa Rosalía, localizado en la costa oriental del golfo de California ($27^{\circ} 20' N$ y $112^{\circ} 16' O$), durante el periodo de septiembre de 2014 a agosto 2015, excepto en marzo de 2015, cuando no fue posible obtener organismos. De cada organismo se registró la longitud de la concha (distancia en línea recta desde el margen anterior al margen posterior de la concha (LC; 0.1 mm de precisión), así como los pesos: total, sin concha y de la concha (0.1 g de precisión), y se calculó

el índice de condición general (ICG), como la razón porcentual del peso sin concha y el peso total (Góngora-Gómez *et al.*, 2016).

De cada organismo se extrajo tejido gonadal, el cual fue fijado en formaldehído al 10% en agua de mar. Después de lavar el exceso de fijador, el tejido se procesó histológicamente (Humason, 1979), se deshidrató por medio de una serie de alcoholos de concentraciones crecientes (70-100%) y se aclaró con HemoDe® y con inclusión en Paraplast®. Se realizaron cortes de 5 μm de grosor y se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina, con la que se obtiene un contraste adecuado de las estructuras del tejido.

El sexo (macho o hembra) se identificó mediante el análisis microscópico. Para evaluar la proporción de sexos en la muestra se aplicó una prueba de ji-cuadrada con la corrección de continuidad de Yates (χ_c^2) bajo la hipótesis nula de que existe una proporción 1:1 (Zar, 1996). La regla de decisión se realizó con una confianza del 95%, sin aceptar la hipótesis cuando el valor de χ_c^2 calculado fuera mayor a 3.86 (Sokal & Rohlf, 1979).

La descripción del ciclo reproductivo se realizó a través de la estimación de las frecuencias relativas mensuales de cada fase de desarrollo gonádico (Tabla 1). Durante el análisis microscópico se detectaron infiltraciones hemocíticas en el tejido gonadal y, al considerar el origen contaminado de las muestras, se aplicó el índice cualitativo propuesto por Bignell *et al.* (2011). Primero, con una estimación visual, se ubicaron las muestras en etapas (ausente, presente, intermedio o abundante) con base en la proporción de cobertura de células eosinófilas presentes en el tejido gonadal, de acuerdo con la clasificación que se presenta en la Tabla 2. Posteriormente, se clasificaron los organismos en cada etapa agrupándolos por sexo, mes y fase de desarrollo gonadal, para calcular los porcentajes y llevar a cabo las comparaciones entre ellas.

Mediante el modelo logístico $y = a/(1+be^{-cL})$, se obtuvo la talla de madurez sexual ($L_{50\%}$) al medir la longitud de la concha a la cual el 50% de los individuos son sexualmente maduros. Para esto se utilizó solamente a los organismos con actividad reproductiva, es decir, organismos en fase de madurez, desove/espermación y recuperación.

Se obtuvieron datos de la temperatura superficial del mar (TSM) y la concentración superficial de clorofila-a desde el navegador en línea de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) "Coast Watch Browser". Para ambas variables se calcularon los promedios mensuales de la zona aledaña a la dársena del puerto de Santa Rosalía, Baja California Sur, en el periodo de 2014 a 2015 en las coordenadas $27^{\circ} 20' 45.76'' N$, $-112^{\circ} 15' 49.28'' O$.

Análisis estadísticos. Al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov se encontró que los datos de tallas (KS = 0.14, $p = 0.01$), peso total (KS = 0.11, $p = 0.02$), peso sin concha (KS = 0.10, $p = 0.04$) e índice de condición (KS = 0.12, $p = 0.04$) no presentan una distribución normal, por lo que para detectar diferencias significativas de estas variables entre sexos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Debido a que los valores del índice de condición son porcentajes, se aplicó una transformación arcoseno (Zar, 1996) para normalizar la distribución de los datos y poder aplicar los análisis de correlación y cumplir con el supuesto de normalidad. Se utilizaron los promedios mensuales para realizar correlaciones de Spearman (análisis no paramétrico) entre las variables ambientales (temperatura superficial del mar y concentración superficial de clorofila a y el ICG, así como también con la fase de desarrollo de mayor frecuencia. Los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significancia de $p < 0.05$ con el programa Minitab 18.

Tabla 1. Fases de desarrollo de las gónadas y los correspondientes valores del índice de condición general (media ± error estándar) de *Chione undatella* (Sowerby, 1835).

Hembras			Machos		
Estadio de desarrollo gonádico	ICG	Observación microscópica	Estadio de desarrollo gonádico	ICG	Observación microscópica
Indiferenciado	15.40 ± 0.13	Presencia de acinos vacíos, no se observan gametos. No se puede diferenciar el sexo. El tejido conjuntivo es abundante.			
Desarrollo inicial	19.89 ± 1.31	Ovocitos pedunculados unidos a las paredes de los folículos. En algunos casos se observan ovocitos residuales de un desove anterior (remaduración).	Desarrollo	20.90 ± 0.62	Una capa gruesa de espermatogonias y espermatocitos en los túbulos seminíferos, separados por tejido conectivo.
Desarrollo final	20.30 ± 0.81	Folículos con ovocitos en diferentes fases (vitelogénicos y pedunculados). Los ovocitos se encuentran unidos a la pared del folículo y unos pocos libres en el lumen. Una marcada reducción en la cantidad de tejido conectivo entre los folículos.			
Madurez	20.03 ± 0.71	Folículos llenos de ovocitos libres en el lumen. Los núcleos y nucléolos de los ovocitos son visibles. Sin tejido conectivo entre folículos.	Madurez	19.95 ± 0.56	Crecimiento de los túbulos seminíferos, sin espacio entre ellos. Reducción en la cantidad de espermatogonias y espermatocitos con un aumento en la cantidad de espermatozoides visibles en el centro de los túbulos.
Desove	20.52 ± 0.88	Folículos parcialmente vacíos, con ovocitos libres en el lumen y presencia de fagocitos.	Espermiación	19.99 ± 0.61	Algunos túbulos con espermatozoides abundantes y otros parcialmente vacíos con las paredes rotas.
Recuperación	19.77 ± 0.67	Folículos vacíos, con algunos ovocitos residuales y actividad fagocitaria.	Recuperación	19.34 ± 0.94	Los túbulos presentan gametos residuales, actividad fagocitaria y abundante tejido conectivo entre ellos.

RESULTADOS

Se analizaron 176 organismos, de los cuales, 2 fueron indiferenciados (1%), 82 fueron machos (47%) y 92 fueron hembras (52%). La proporción sexual total fue 1.1H:1M, y sólo fue significativamente diferente de la proporción 1:1 en julio ($\chi^2_c = 1.14$; $p < 0.05$), donde hubo más hembras que machos (6H:1M).

Los valores medios, error estándar y rango de las variables morfométricas y del índice de condición general por sexo, así como los resultados de las pruebas de Kruskal-Wallis se presentan en la Tabla 3. Las hembras fueron significativamente más grandes que los machos, tanto en longitud de la concha (LC) como en peso total; sin embargo, al comparar el peso sin concha, esta diferencia desapareció y, de forma similar, en el ICG se equilibró la diferencia entre sexos. Al analizar la

variabilidad mensual del ICG se observa la misma tendencia en ambos sexos, a pesar de que no hay una correlación significativa ($\text{Rho} = 0.77$; $p = 0.005$; $N = 11$; Fig. 1), ya que se registró un promedio alto en abril, tanto en hembras (23.4 ± 0.38) como en machos (21.45 ± 0.83), y otro en agosto en machos (23.37 ± 0.63) y en septiembre en hembras (24.55 ± 2.62), hasta alcanzar los menores valores en octubre (14.45 ± 0.94 y 15.29 ± 1.29 , hembras y machos respectivamente). Se encontró una correlación inversamente proporcional ($\text{Rho} = -0.633$; $p = 0.010$; $N = 11$) entre los promedios mensuales del ICG y la fase de desarrollo de mayor frecuencia en hembras, pero no en machos.

Se estimó la talla de madurez sexual ($L_{50\%}$) para machos en 57.01 mm LC ($r^2 = 0.98$) y para hembras en 57.09 mm LC ($r^2 = 0.99$), aunque la hembra más pequeña con actividad reproductiva fue de 42 mm LC y el macho de 50 mm LC (Fig. 2).

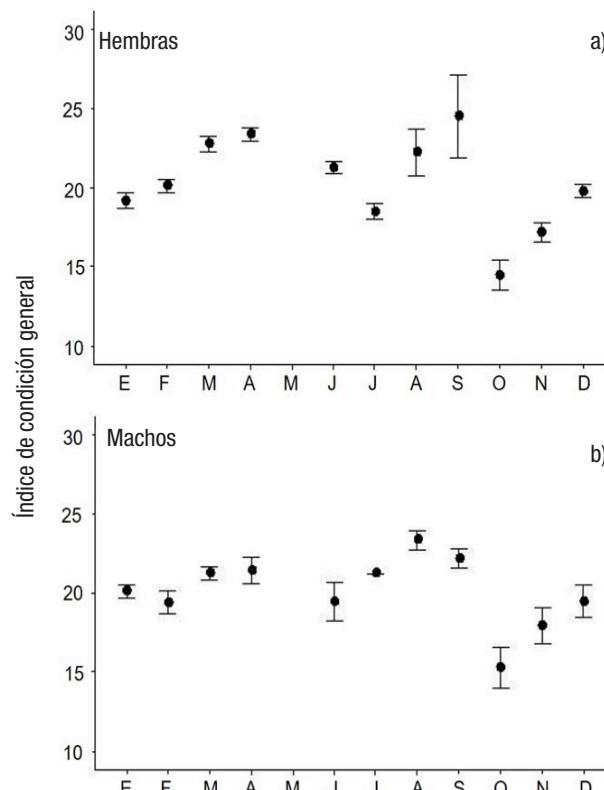
Análisis histológico. En el tejido gonadal se observó que al inicio del desarrollo la pared de los folículos estaba engrosada, las ovogonias y ovocitos se encontraban en crecimiento en las hembras, y los espermatocitos en los machos se hallaban embebidos en la pared de los folículos. Había tejido conectivo interfolicular muy evidente, el cual se reduce conforme se avanza en el proceso de maduración. De manera generalizada, se observan gametos en diferentes fases de desarrollo al mismo tiempo en un mismo individuo, lo que permite suponer que hay una producción continua de gametos y desoves parciales.

Se presenta actividad reproductiva durante todo el año, de manera más evidente en machos (Fig. 3). Las hembras maduras se presentan en mayor porcentaje de marzo a junio y en agosto (> 50%), y desovan en mayor porcentaje durante julio y septiembre (50 y 100%, respectivamente), pero presentan desove de menor intensidad durante enero y febrero (38 y 36%, respectivamente). Los machos maduros se observan prácticamente todo el año (excepto en septiembre y octubre) y registran un mayor porcentaje de espermación entre octubre y enero, con mayor intensidad en octubre y noviembre (> 80%). Los organismos indiferenciados se presentaron en julio y en diciembre con tallas de 61 mm LC y 57 mm LC, respectivamente.

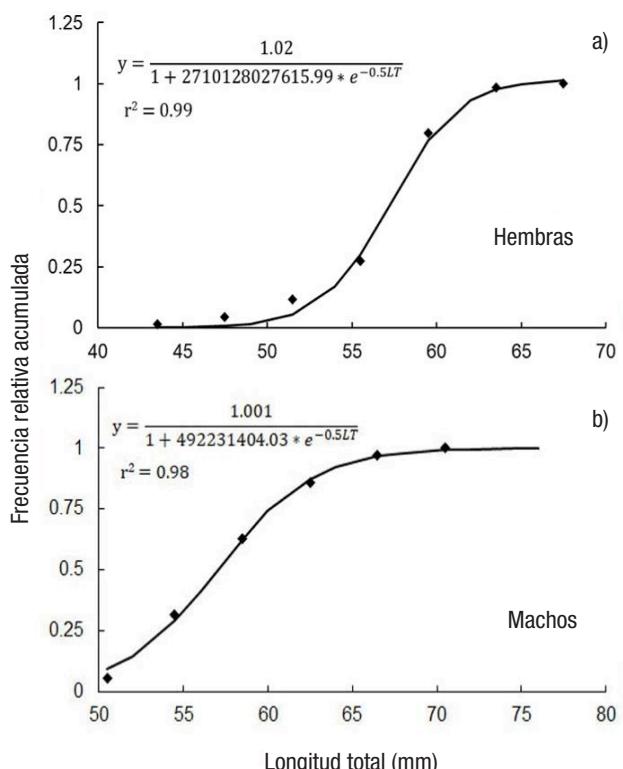
Infiltración hemocítica en el tejido gonadal. Esta condición se presentó tanto en hembras como en machos con intensidades similares ($\rho = 1.90$; $p = 0.168$; $N = 174$), por lo que se analizaron los datos en conjunto. Adicionalmente, esta condición estuvo acompañada de una reducción y desaparición del tejido conectivo. Durante la mayor parte

del año se observó una infiltración de células eosinófilas en el tejido gonadal en más del 80% de los individuos analizados (Fig. 4). La variación mensual de la prevalencia de organismos con infiltración de células eosinófilas en el tejido gonadal se presenta en la Figura 5a. Los meses cuando se observó una menor frecuencia de organismos con infiltración (53 y 47%) fueron agosto y octubre, mientras que la prevalencia de estas infiltraciones fue notable en enero y julio, cuando más del 85 % de los individuos presentaban infiltración con una intensidad en etapa 3 (abundante); mientras que en enero, marzo, julio, septiembre y noviembre el 100% de los organismos presentaban infiltraciones. Por otro lado, en las cuatro fases de desarrollo gonádico se presentó una intensidad de intermedia (etapa 2) a abundante (etapa 3) de infiltración de células eosinófilas en más del 60% de los organismos (Fig. 5b).

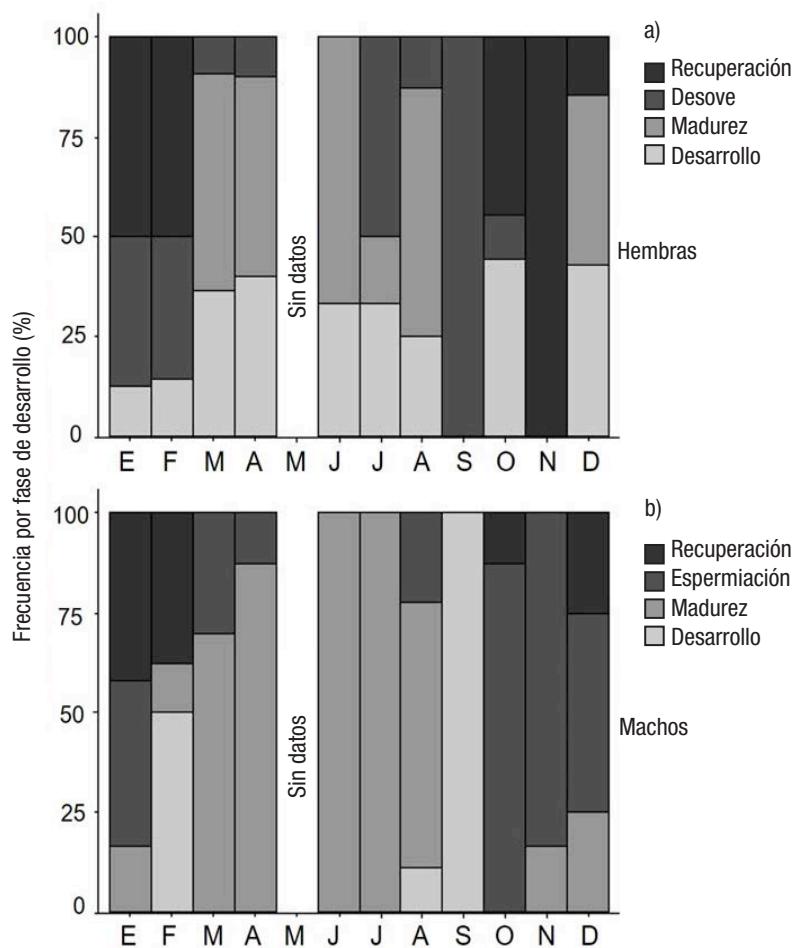
Variables ambientales. Las variaciones mensuales de la temperatura superficial del mar y clorofila *a* se presentan en la Figura 6. Se registraron temperaturas del agua mayores a 25 °C en el periodo de junio a octubre, agosto fue el mes más cálido con 30.2 °C, en noviembre la temperatura del agua empezó a disminuir hasta llegar al menor promedio mensual en enero con 18.4 °C. La concentración de clorofila-*a* mostró notables variaciones: tres períodos con valores altos, el máximo en marzo (47.66 mg/m³) seguido de septiembre (41.44 mg/m³) y el menor en junio (28.39 mg/m³). Julio fue el mes con la menor concentración de clorofila-*a*, ya que sólo alcanzó los 0.63 mg/m³. No se encontró correlación estadísticamente significativa entre el ICG con la concentración de clorofila *a* ($\rho = -0.08$; $p = 0.81$; $N = 11$), ni con la TSM ($\rho = -0.01$; $p = 0.98$; $N = 11$).



Figuras 1a-b. Variación estacional del índice de condición general de hembras (a) y machos (b) de *Chione undatella* (Sowerby, 1835) en Santa Rosalía, Baja California Sur, México.



Figuras 2a-b. Talla de madurez sexual (L_{50}) para hembras (a) y machos (b) de *Chione undatella* (Sowerby, 1835) en Santa Rosalía, Baja California Sur, México. Se incluyen los modelos ajustados.

Figuras 3a-b. Ciclo reproductivo de hembras (a) y machos (b) de *Chione undatella* (Sowerby, 1835) en Santa Rosalía, Baja California Sur, México.

DISCUSIÓN

En la región costera del golfo de California, el ambiente sedimentario del puerto de Santa Rosalía es receptor y fuente de contaminantes inorgánicos. En este sentido, se han reportado anomalías de concentración de elementos no esenciales en los sedimentos, que evidencian una potencial toxicidad y su bioconcentración en la macroalga *Padina durvillei* Bory Saint-Vincent, 1827 (Rodríguez-Figueroa *et al.*, 2009). La almeja roñosa *C. undatella*, al ser un organismo filtrador, está propensa a bioacumular metales pesados, como se ha documentado para otros organismos filtradores (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1999; Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009), lo cual podría traer consecuencias adversas para el metabolismo. Asimismo, se reportó recientemente que en esta región minera la almeja chocolata *M. squalida* presenta indicios de una salud general deteriorada, que se observa en su menor tamaño y su baja condición ($ICG < 20\%$), en comparación con otras zonas no contaminadas o contaminadas en menor grado (Yee-Duarte *et al.*, 2017). En *C. undatella* los valores del ICG parecen estar relacionados con la fase de madurez (ver Tabla 1). En las hembras, por su parte, los valores mensuales de ICG estuvieron entre 24.5 ± 2.6 en septiembre y 14.4 ± 0.9 en octubre, pero esto parece estar más relacionado con el desove que con una mala condición de salud general. Al considerar específicamente

te la condición histopatológica de la gónada, se reportaron, en la misma zona minera donde se realizó el presente estudio, algunas alteraciones en las góndolas de *M. squalida* (ovocitos atrésicos, células cafés, infiltración de hemocitos, granulocitomas y parásitos) y se evidenció una gran presencia de cobre (30%) y hierro (45%), que se midió como área de cobertura en el corte del tejido de la góndola (Yee-Duarte *et al.*, 2018). Lo anterior guarda estrecha concordancia con la exposición crónica a altos niveles de metales pesados. En *C. undatella* se observó una infiltración anormal de células eosinófilas dentro del tejido gonadal, lo cual se discute más adelante.

Los resultados mostraron que *C. undatella* presenta actividad reproductiva (madurez y desove) durante la mayoría de los meses con una producción continua de gametos (evidenciada por la presencia de gametos en diferentes fases de desarrollo al mismo tiempo) y desoves parciales. En el caso de los machos, es más marcada la actividad reproductiva continua (madurez o espermatiación durante todo el año). De la misma forma, se ha reportado una actividad reproductiva continua en dos poblaciones de la misma especie en Bahía Falsa y El Cardonal, ambos lugares dentro de la bahía de La Paz (Baquero-Cárdenas & Masso-Rojas, 1988), lo cual indica que es parte de la estrategia reproductiva de la especie.

Tabla 2. Grado cualitativo utilizado para evaluar la intensidad de la infiltración de células eosinófilas en el tejido gonadal de *Chione undatella* (Sowerby, 1835) (modificado de Bignell *et al.*, 2011).

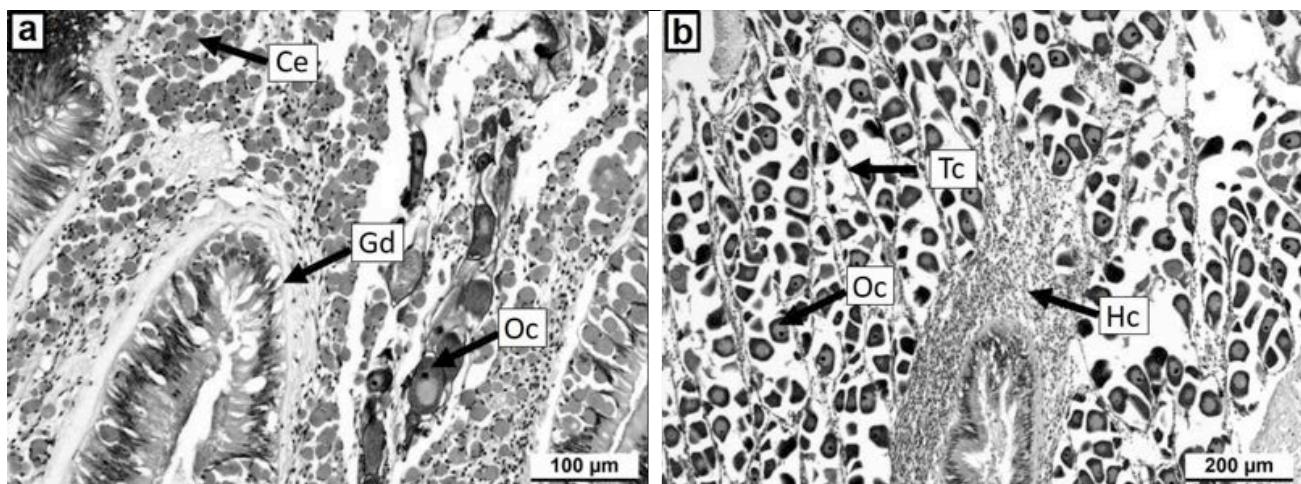
Etapa	Proporción de células eosinófilas
0 Ausente	Sin presencia de células eosinófilas en el tejido (0 %)
1 Presente	Presencia de algunas células eosinófilas en el tejido ($> 0 \% \leq 10 \%$)
2 Intermedio	Presencia notable de células eosinófilas en el tejido ($> 10 \% \leq 50 \%$)
3 Abundante	Presencia abundante de células eosinófilas ($> 50 \%$)

Sin embargo, se detectan diferencias temporales en los períodos de mayor intensidad de desove entre las poblaciones. En este estudio, el mayor porcentaje de hembras en desove se presenta en julio (50%) y septiembre (100%), mientras que en Bahía Falsa es en abril (30%), junio (45%), enero y febrero (máximo de 37%), y finalmente, en El Cardonal su máximo se presenta en octubre (45%). En bivalvos se ha demostrado que la temperatura y disponibilidad de alimento son los factores más importantes que afectan su ciclo reproductivo (Cardoso *et al.*, 2007; Freites *et al.*, 2010) y, por lo tanto, las diferencias en la temporalidad de los desoves pueden ser atribuidas a las distintas condiciones ambientales que presenta cada zona (Laudien *et al.*, 2001; Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2001) o a variaciones interanuales en las condiciones ambientales. Es común que el desove en los bivalvos se lleve a cabo en concordancia con temperaturas cálidas y se dispare cuando excede de un nivel crítico característico (Maeda-Martínez, 2001). En *C. fluctifraga* (Sowerby, 1853) se detectó el desove principal durante julio y agosto, cuando la temperatura alcanzó sus máximos valores (29 y 30 °C, respectivamente) (Castillo-Durán *et al.*, 2013); mientras que en *C. californiensis* (Broderip, 1835) el desove se presentó cuando la temperatura fue mayor a 24 °C (García-Domínguez *et al.*, 1993). En contraste, también se ha reportado una reproducción continua inde-

pendientemente de la variación de la temperatura para *C. cancellata* (Linnaeus, 1767) en Florida (Moore & López, 1969).

De acuerdo con este estudio y con lo reportado por Baqueiro & Masso (1988), en Baja California Sur *C. undatella* se reproduce continuamente sin un efecto aparente originado de la variación estacional de la temperatura del agua o de la concentración de clorofila-a. Sin embargo, en Santa Rosalía encontramos que los períodos máximos de desove y espermatiación coinciden con los máximos valores en la temperatura superficial del mar. Por su parte, las mayores concentraciones de clorofila a podrían estar más relacionadas con los períodos de maduración gonádica y desove o con una mayor cantidad de alimento para la producción de gametos o para las larvas, respectivamente.

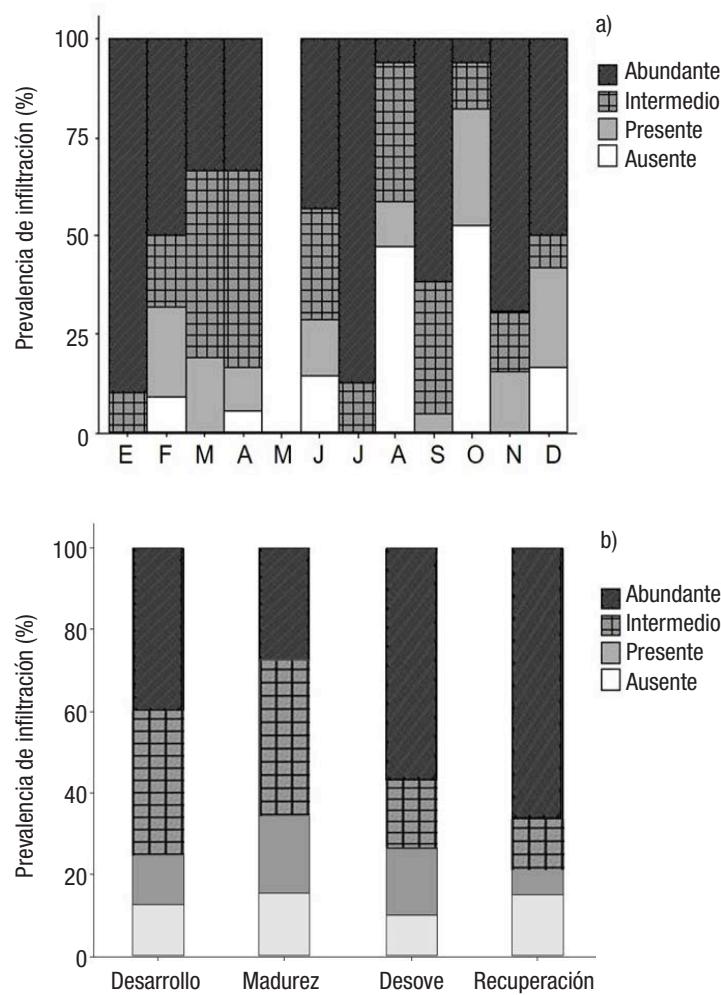
En *C. undatella* se encontraron células eosinófilas infiltradas en el tejido gonadal similares a las células hemocíticas relacionadas con la excreción de material extraño en *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) (Russell-Pinto *et al.*, 1994). En moluscos, los hemocitos (células inmunoefectoras) y células café son los principales mecanismos de defensa involucrados en el proceso de inflamación y en la acumulación y desintoxicación de contaminantes (Ottaviani *et al.*, 2010; Ottaviani, 2011; Boscolo-Papo *et al.*, 2014).



Figuras 4a-b. Microfotografía de tejido gonadal de *Chione undatella* (Sowerby, 1835), teñido con hematoxilina-eosina. a) Tejido gonadal con infiltración de células eosinófilas (Ce), con algunos ovocitos (Oc), y parte de la glándula digestiva (Gd). b) Tejido gonadal en estado normal con abundantes ovocitos (Oc), con tejido conectivo (Tc) y células hemocíticas (Hc).

Tabla 3. Comparación de las variables morfométricas y del índice de condición general por sexo de *Chione undatella* (Sowerby, 1835) en Santa Rosalía, Baja California Sur, México. Se presentan media ± error estándar y el rango entre paréntesis.

	Machos N = 82	Hembras N = 92	Kruskal-Wallis g.l. 1
Longitud de la concha (mm)	57.94 ± 0.50 (48-70)	58.85 ± 0.47 (42-66)	H = 4.73 <i>p</i> = 0.029
Peso total (g)	62.81 ± 1.62 (38.5-112.5)	65.44 ± 1.44 (23.9-94.4)	H = 5.57 <i>p</i> = 0.018
Peso sin concha (g)	12.59 ± 0.31 (7.6-20.3)	13.30 ± 0.35 (4.1-20.3)	H = 3.47 <i>p</i> = 0.063
Índice de condición general	20.31 ± 0.33 (10.25-25.94)	20.47 ± 0.43 (11.68-44.23)	H = 0.18 <i>p</i> = 0.669



Figuras 5a-b. Variación mensual (a) y por fase de desarrollo gonádico (b) de la prevalencia por etapa de intensidad de infiltración de células eosinófilas en el tejido gonadal de *Chione undatella* (Sowerby, 1835) (ambos sexos) en la zona costera de la región minera de Santa Rosalía, Baja California Sur, México.

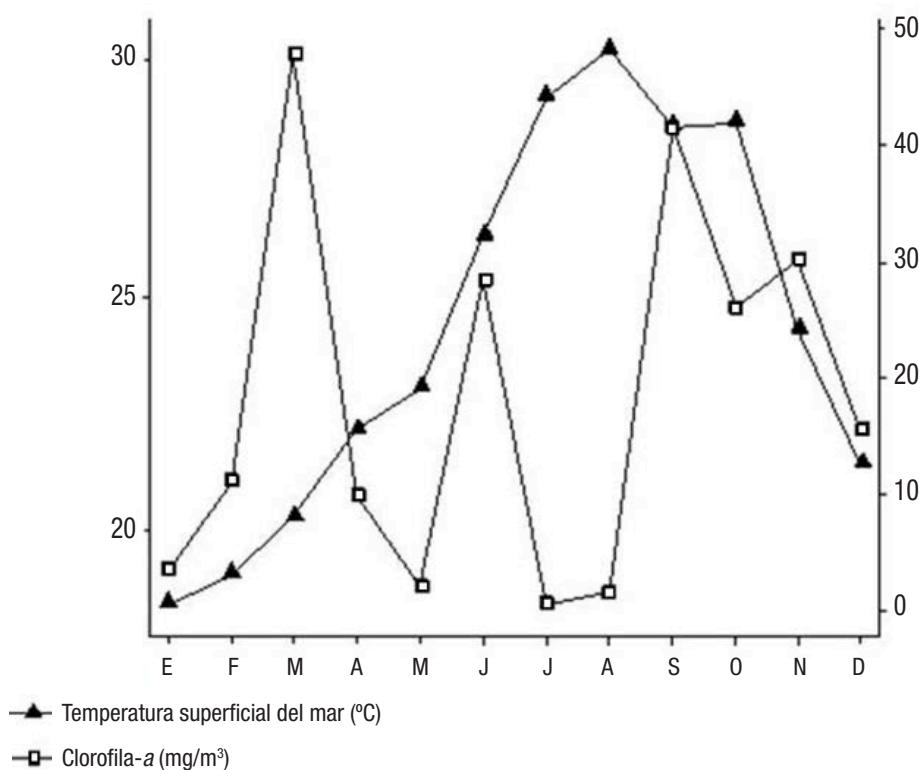


Figura 6. Variación mensual de temperatura superficial del mar y de la concentración de clorofila-a en las coordenadas 27° 20' 45.76" N, 112° 15' 49.28" O.

Cuando consideramos que el tejido gonadal de *C. undatella* muestra una infiltración de células eosinófilas con una prevalencia alta (intermedia y abundante) en todos los meses y fases de desarrollo gonádico, podemos descartar dos causas: presencia de alguna infección por parásitos (no se encontró evidencia de su presencia) o que se deba al proceso de recuperación natural de la gónada (se presentó en el desarrollo y la madurez con > 80% de prevalencia). Por lo tanto, se podría hipotetizar que, debido a que estos organismos están expuestos crónicamente a un ambiente contaminado por metales (Shumilin *et al.*, 2013), estas células están relacionadas con la reacción celular a estrés abiótico, el cual resulta en un proceso de inflamación inmune innato (Bouallegui *et al.*, 2017).

Distintos autores mencionan que después del transporte de hemocitos y células cafés, algunos tejidos se identifican como blancos de acumulación o desintoxicación de contaminantes en moluscos (Boscoco-Papo *et al.*, 2014). Estas infiltraciones se presentan acompañadas de alteraciones morfológicas a nivel celular, como un decremento en el volumen de una célula o un órgano, así como una pérdida de grosor del epitelio o atrofia (Bouallegui *et al.*, 2017). Esta pérdida de la arquitectura normal del tejido gonadal en *C. undatella* fue evidente con la reducción y desaparición del tejido conectivo. Dicho fenómeno ha sido descrito previamente por Villalba *et al.* (2001).

A pesar de que *C. undatella* presenta actividad reproductiva todo el año, la alta prevalencia de infiltraciones hemocíticas y la pérdida de la arquitectura normal del tejido gonadal sugieren una potencial deficiencia en su reproducción. Es importante hacer más estudios (gasto

energético, fecundidad y viabilidad de los huevos) para confirmarlo y para determinar su relación con la contaminación presente en la zona.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por los proyectos SIP 20150117, 20160467, 20171428, SIP 20170262 y 20180442. C. A. Arce-Peinado es un estudiante becario CONACyT; los resultados presentados aquí son parte de su tesis doctoral.

REFERENCIAS

- ARIZPE-COVARRUBIAS, O. 1992. Los moluscos y su importancia comercial en el Pacífico mexicano. Libros universitarios 1, Serie Didáctica. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, México. 219 p.
- AUFFRET, M. 1988. Histopathological changes related to chemical contamination in *Mytilus edulis* from field and experimental conditions. *Marine Ecology Progress Series* 46: 101-107.
- BAQUEIRO-CARDENAS, E. & J. A. MASSÓ-ROJAS. 1988. Variaciones poblacionales y reproducción de dos poblaciones de *Chione undatella* (Sowerby, 1835), bajo diferentes regímenes de pesca en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Ciencia Pesquera* 6: 51-68.
- BIGNELL, J. P., G. D. STENTIFORD, N. G. H. TAYLOR & B. P. LYONS. 2011. Histopathology of mussels (*Mytilus sp.*) from the Tamar estuary, UK. *Marine Pollution Bulletin* 62: 182-188.

- rine Environmental Research* 72: 25-32. DOI:10.1016/j.marenvres.2011.05.004
- BOSCOLO-PAPO, M., D. BERTOTTO, F. PASCOLI, L. LOCATELLO, M. VASCELLARI, C. POLTRONIERI, F. QUAGLIO & G. RADELLI. 2014. Induction of brown cells in *Venerupis philippinarum* exposed to benzo(a)pyrene. *Fish and Shellfish Immunology* 40: 233-238. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.07.006
- BOUALLEGUI, Y., R. BEN-YOUNES, H. BELLAMINE & R. QUESLATI. 2017. Histopathology and Analyses of inflammation intensity in the gills of mussels exposed to silver nanoparticles: role of nanoparticle size, exposure time and uptake pathways. *Toxicology Mechanisms and Methods* 27 (8): 582-591. DOI: 10.1080/15376516.2017.1337258
- CADENA-CÁRDENAS, L., L. MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, T. ZENTENO-SAVÍN, J. GARCÍA-HERNÁNDEZ & B. ACOSTA-VARGAS. 2009. Heavy metal levels in marine mollusks from areas with, or without, mining activities along the Gulf of California, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 57: 96-102. DOI: 10.1007/s00244-008-9236-0
- CARDOSO, J. M. F. M., D. LANGLET, J. F. LOFF, A. R. MARTINS, J. I. J. WITTE, P. T. SANTOS & H. W. VAN DER VEER. 2007. Spatial variability in growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), along the west European coast. *Journal of Sea Research* 57 (4): 303-315. DOI: 10.1016/j.seares.2006.11.003
- CASTILLO-DURÁN, A., A. CASTRO-ACEDO, J. A. ARREOLA-LIZÁRRAGA, F. HOYOS-CHAIRES, C. CÁCERES-MARTÍNEZ, R. MENDOZA-SALGADO & J. CHÁVEZ-VILLALBA. 2013. Ciclo gametogénico e índice de condición de la almeja *Chione fluctifraga* en Bahía San Jorge, Golfo de California, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 48: 59-72. DOI: 10.4067/S0718-19572013000100006
- DARRIBA, S., F. SAN JUAN & A. GUERRA. 2004. Reproductive cycle of the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) in northwest Spain and its relation to environmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 311 (1): 101-115. DOI: 10.1016/j.jembe.2004.05.004
- DRIDI, S., M. S. ROMDHANE & M. ELCAFSI. 2007. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. *Aquaculture* 263: 238-248. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.10.028
- ENRÍQUEZ-DÍAZ, M., S. POUVREAU, J. CHÁVEZ-VILLALBA & M. LE PENNEC. 2009. Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the Pacific giant oyster *Crassostrea gigas*: evidence of an environment-dependent strategy. *Aquaculture International* 17 (5): 491-506. DOI: 10.1007/s10499-008-9219-1
- FISHER, W., F. KRUPP, W. SCHNEIDER, C. SOMMER, K. E. CARPENTER & V. H. NIEM. 1995. *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro oriental. Volumen I. Plantas e invertebrados*. FAO. Roma. 646 p.
- FREITES, L., C. CORDOVA, D. ARRIEche, L. MONTERO, N. GARCÍA & J. H. HIMMELMAN. 2010. Reproductive cycle of the penshell *Atrina seminuda* (Mollusca: Bivalvia) in northern waters of Venezuela. *Bulletin of Marine Science* 86 (4): 785-801. DOI: 10.5343/bms.2009.1077
- GARCÍA-DOMÍNGUEZ, F. A., G. GARCÍA-MELGAR & P. GONZÁLEZ-RAMÍREZ. 1993. Ciclo reproductivo de la almeja roñosa, *Chione californiensis* (Broderip, 1835), en Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas* 19 (1): 15-28.
- GARMENDIA, L., M. SOTO, M. ORTIZ-ZARRAGOITA, A. ORBEA, M. P. CAJARAVILLE & L. MARIGÓMEZ. 2011. Application of a battery of biomarkers in mussel digestive gland to asses long-term effects of the Prestige oil spill in Galicia and Bay of Biscay: correlation and multivariate analysis. *Journal of Environmental Monitoring* 13: 933-942. DOI: 10.1039/C0em00704h
- GÓNGORA-GÓMEZ, A., M. GARCÍA-ULLOA, M. ARELLANO-MARTÍNEZ, S. ABAD, A. DOMÍNGUEZ & J. PONCE-PALAOX. 2016. Annual reproductive cycle and growth of the pen shell *Atrina maura* (Pterioidea: Pinnidae) on sand-bottom culture in the Ensenada Pabellones lagoon system, Gulf of California, Mexico. *Invertebrate Reproduction and Development* 60 (1): 28-38. DOI: 10.1080/07924259.2015.1126535
- GUTIÉRREZ-GALINDO, E. A., J. A. VILLAESCUSA-CELAYA & A. ARREOLA-CHIMAL. 1999. Bioaccumulation of metals in mussels from four sites of the coastal region of Baja California. *Ciencias Marinas* 25: 557-578.
- HUMASON, G. L. 1979. *Animal Tissue Techniques*. 3rd ed. W.H.Freeman & Co Ltd. San Francisco. 641 p.
- JENNINGS, S., S. P. R. GREENSTREET & J. D. REYNOLDS. 1999. Structural change in an exploited fish community: A consequence of differential fishing effects on species with contrasting life histories. *Journal of Animal Ecology* 68: 617-627. DOI: 10.1046/j.1365-2656.1999.00312.x
- KIM, Y. & E. N. POWELL. 2007. Distribution of parasites and pathologies in sentinel bivalves: NOAA status and trends "mussel watch" program. *Journal of Shellfish Research* 26: 1115-1151. DOI: 10.2983/0730-8000(2007)26[1115:dopapi]2.0.co;2
- LAUDIEN, J., T. BREY & W. E. ARNTZ. 2001. Reproduction and recruitment patterns of the surf clam *Donax serra* (Bivalvia, Donacidae) on two Namibian sandy beaches. *South African Journal of Marine Science* 23: 53-60. DOI: 10.2989/025776101784528980
- LOWE D. M. & N. M. MOORE. 1979. The cytology and occurrence of granulocytomas in mussels. *Marine Pollution Bulletin* 10: 137-141. DOI: 10.1016/0025-326x(79)90081-x
- MAEDA-MARTÍNEZ, A. N. (ed). 2001. *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: ciencia y acuicultura*. Editorial Limusa, México. 501 p.
- MOORE, H. B. & N. N. LÓPEZ. 1969. The ecology of *Chione ancillata*. *Bulletin of Marine Science* 19: 131-148.
- MULLER, W. A. 2003. Leukocyte-endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. *Trends in Immunology* 24: 326-333. DOI: 10.1016/S1471-4906(03)00117-0
- NEFF, J. M., R. E. HILLMAN, R. S. CARR, R. L. BUHL & J. I. LAHEY. 1987. Histopathologic and biochemical responses in arctic marine bivalve molluscs exposed to experimentally spilled oil. *Arctic* 40 (Supp. 1): 220-229.
- OTTAVIANI, E. 2011. Immunocyte: the invertebrate counterpart of the vertebrate macrophage. *Invertebrate Survival Journal* 8: 1-4. Disponible en línea en: <http://www.isj.unimo.it/articoli/ISJ224.pdf>
- OTTAVIANI, E., A. FRANCHINI & D. MALAGOLI. 2010. Inflammatory Response in Molluscs: Cross-Taxa and Evolutionary Considerations

- tions. *Current Pharmaceutical Design* 16: 4160-4165. DOI: [10.2174/138161210794519084](https://doi.org/10.2174/138161210794519084)
- RODRÍGUEZ-FIGUEROA, G. M., E. SHUMILIN & I. SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ. 2009. Heavy metal pollution monitoring using the brown seaweed *Padina duri-villaei* in the coastal zone of the Santa Rosalía mining region, Baja California Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology* 21: 19-26. DOI: [10.1007/s10811-008-9346-0](https://doi.org/10.1007/s10811-008-9346-0)
- RODRÍGUEZ-JARAMILLO, C., A. N. MAEDA-MARTÍNEZ, M. E. VALDEZ, T. REYNOSO-GRA-NADOS, P. MONSALVO-SPENCER, D. PRADO-ANCONA, F. CARDOZA-VELASCO, M. ROBLES-MUNGARAY & M. T. SICARD. 2001. The effect of temperature on the reproductive maturity of the penshell *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae). *Journal of Shellfish Research* 20: 39-47.
- RUSSELL-PINTO, F., R. REIMÃO & M. DE SOUSA. 1994. Haemocytes in *Cerastoderma edule* (Mollusca, Bivalvia): distinct cell types engage in different responses to sheep erythrocytes. *Fish and Shellfish Immunology* 4: 383-397. DOI: [10.1006/fsim.1994.1033](https://doi.org/10.1006/fsim.1994.1033)
- SHUMILIN, E., G. M. RODRÍGUEZ-FIGUEROA, O. M. MORTON-BERMEA, E. LOUNEJ-EVA-BATURINA, E. HERNÁNDEZ & D. RODRÍGUEZ-MEZA. 2000. Anomalous trace element composition of coastal sediments near the copper mining district of Santa Rosalía, Peninsula of Baja California, Mexico. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology* 65: 261-268. DOI: [10.1007/s0012800123](https://doi.org/10.1007/s0012800123)
- SHUMILIN, E., V. GORDEEV, G. RODRÍGUEZ-FIGUEROA, L. DEMINA & K. CHOUMLINE. 2011. Assessment of geochemical mobility of metals in surface sediments of the Santa Rosalía mining region, western Gulf of California. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 60: 8-25. DOI: [10.1007/s00244-010-9532-3](https://doi.org/10.1007/s00244-010-9532-3)
- SHUMILIN, E., G. RODRÍGUEZ-FIGUEROA, D. SAPOZHNIKOV, Y. SAPOZHNIKOV & K. CHOUMLINE. 2012. Anthropogenic and authigenic uranium in marine sediments of the Central Gulf of California adjacent to the Santa Rosalía mining region. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 63 (3): 309-322. DOI: [10.1007/s00244-012-9776-1](https://doi.org/10.1007/s00244-012-9776-1)
- SHUMILIN, E., A. JIMÉNEZ-ILLESCAS & S. LÓPEZ-LÓPEZ. 2013. Anthropogenic contamination of metals in sediments of the Santa Rosalía Harbor, Baja California Peninsula. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 90: 333-337. DOI: [10.1007/s00128-012-0923-1](https://doi.org/10.1007/s00128-012-0923-1)
- SOKAL R. R. & F. J. ROHLF. 1979. *Biometría: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H. Blume Ediciones, Madrid. 832 p.
- STEARNS, S. C. 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften* 87: 476-486. DOI: [10.1007/s001140050763](https://doi.org/10.1007/s001140050763)
- USHEVA, L. N., M. A. VASCHENKO & V. B. DURKINA. 2006. Histopathology of the digestive gland of the bivalve mollusk *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) from southwestern Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Russian Journal of Marine Biology* 32: 166-172. DOI: [10.1134/s1063074006030047](https://doi.org/10.1134/s1063074006030047)
- VASCHENKO, M. A., H. L. HSIEH & V. I. RADASHEVSKY. 2013. Gonadal state of the oyster *Crassostrea angulata* cultivated in Taiwan. *Journal of Shellfish Research* 32: 471-482. DOI: [10.2983/035.032.0227](https://doi.org/10.2983/035.032.0227)
- VILLALBA, A., S. G. MOURELLE, M. J. CARBALLAL & C. LÓPEZ. 1997. Symbionts and diseases of farmed mussels *Mytilus galloprovincialis* throughout the culture process in the Rías of Galicia (NW Spain). *Diseases of Aquatic Organisms* 31: 127-139.
- VILLALBA, A., M. J. CARBALLAL & C. LÓPEZ. 2001. Disseminated neoplasia and large foci indicating heavy haemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain). *Diseases of Aquatic Organisms* 46: 213-216.
- YEE-DUARTE, J. A., B. P. CEBALLOS-VÁZQUEZ, E. CHOUMLINE, K. KIDD & M. ARELLANO-MARTÍNEZ. 2017. Evidence of health impairment of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) near the “hot spot” of a mining port, Gulf of California. *Hidrobiología*, 27: 391-398.
- YEE-DUARTE, J. A., B. P. CEBALLOS-VÁZQUEZ, E. URIBE, O. LÓPEZ & M. ARELLANO-MARTÍNEZ. 2018. Histopathological alterations in the gonad of *Megapitaria squalida* (Mollusca: Bivalvia) inhabiting a heavy metals polluted environment. *Journal of Aquatic Animal Health* 30:144-154. DOI: [10.1002/aaah.10015](https://doi.org/10.1002/aaah.10015)
- ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical analysis*. 3rd ed. Prentice Hall Inc., New Jersey. 662 p.

Seasonal fluctuations of Rotifera in a tropical lake in Amazonia (Acre River floodplain, Brazil)

Fluctuación estacional de Rotifera de un lago tropical en la Amazonia (llanura de inundación del Río Acre, Brasil)

Erlei Cassiano Keppeler^{1*}, Alzenira Jacob Serra², Lisandro Juno Soares Vieira³, Jardely de Oliveira Pereira⁴, Maralina Torres da Silva⁵, Maria José Alencar dos Santos⁶ and Antonio Sergio Ferrando⁷

Recibido: 02 de octubre de 2017.

Aceptado: 02 de agosto de 2018.

Publicado: 14 de diciembre de 2018.

¹ University Federal of Acre, Campus of Cruzeiro do Sul, Biodiversity Institute/Water Analyses and Limnology Laboratorie. Multidisciplinar Center. Canela Fina, 69980-000, Acre State, Brazil

² University Federal of Acre, Campus of Cruzeiro do Sul, Biodiversity Institute/Water Analyses and Limnology Laboratorie, Multidisciplinar Center. Canela Fina, 69980-000, Acre State, Brazil

³ University Federal of Acre, Campus of Rio Branco. Center of Biological Sciences, Aquatic ecology and fishes Laboratorie, Distrito Federal, 69915-900, Acre State, Brazil

⁴ University Federal of Acre, Campus of Rio Branco, Laboratory of Anatomy, 69915-900, Distrito Federal and Secretary of Education and Culture. Rio Grande do Sul, 1907, Aeroporto Velho, 69903-420, Acre State, Brazil

⁵ Federal Institute of Education, Baixada do Sol, Carolina de Lima, Coronel José Galdino, 495, Bosque, 69900-640, Rio Branco, Acre State, Brazil. Post Graduate in Biodiversity and Health, Oswaldo Cruz Institute and Foundation. Av. Brasil, 4365, Manguinhos, 21040-900, Rio de Janeiro State, Brazil

⁶ University Federal of Acre, Campus of Cruzeiro do Sul, Biodiversity Institute/Water Analyses and Limnology Laboratorie, Multidisciplinar Center. Canela Fina, 69980-000, Acre State, Brazil

⁷ São Paulo State University, Faculty of Agriculture and Veterinary Sciences. Acess Via Prof. Paulo Donato Castellane w/n., Jaboticabal, 14884-900, São Paulo State, Brazil

*Author for correspondence:
erleikeppeler@gmail.com

To cite as:

Cassiano Keppeler E., A. Jacob Serra, L. J. Soares Vieira, J. de Oliveira Pereira, M. Torres da Silva, M. J. Alencar dos Santos and A. Sergio Ferrando. 2018. Seasonal fluctuations of Rotifera in a tropical lake in Amazonia (Acre River floodplain, Brazil). *Hidrobiológica* 28 (3): 235-347.

DOI:

ABSTRACT

Background: The tropics are centers of high biodiversity of Rotifera that are highly variable and abundant. They play a key role since they are a link in the interaction network with members of other communities.

Temporal changes in the community structure of the Rotifera assemblage is related to hydrologic phases.

Goals: In this study, we focus on testing the hypothesis that the seasonal changes in alpha diversity and abundance (standing stocks) of Rotifera (Monogononta), considering also limnological variables, are mainly related to rainfall patterns. We consider four seasons based on rainfall: rainy, very rainy, dry, and very dry.

Methods: Between 2008 and 2009, rotifers were sampled monthly with a plankton net in qualitative and quantitative sampling, and seven limnological variables were recorded at three sampling stations along Lake Amapá. **Results:** We found approximately 23% of all Rotifera listed for the Amazonia. The high Menhinick index revealed a high species dominance, except in the rainy season. The Shannon index did not show a greater distribution of organisms (0.3844 to 0.8886) independent of the layer and time season. In general, the equability index showed that all species were equally abundant in all seasons, with higher values at the surface and in the middle of the water column. The limnological variables also showed differences between all seasons in at least a layer of the water column. **Conclusions:** The seasons influenced the fluctuations in the communities of Rotifera of Lake Amapá, which led to a different species distribution pattern over time.

Keywords: abundance, oxbow lake, rainfall, zooplankton

RESUMEN

Antecedentes: Los trópicos son centros de alta biodiversidad donde los rotíferos son muy variables y abundantes. Estos organismos desempeñan un papel clave en el ecosistema, ya que son eslabones en la red de interacciones con los miembros de otras comunidades. **Objetivos:** En este estudio nos enfocamos en probar la hipótesis de que los cambios estacionales, incluyendo los patrones de lluvias y las variables limnológicas,

influyen en la diversidad y la abundancia de los rotíferos monogonontes del lago Amapá. **Métodos:** En total se consideraron cuatro períodos estacionales basados en la precipitación: lluvioso, muy lluvioso, seco y muy seco. Entre el año 2008 y 2009, se realizaron muestreos mensuales de plancton y se tomaron siete variables limnológicas en tres estaciones establecidas a lo largo del lago Amapá. Las muestras fueron analizadas de forma cualitativa y cuantitativa en laboratorio. **Resultados:** Se encontró cerca del 23% de rotíferos registrados en la Amazonia. El índice de Menhinick reveló una alta dominancia de las especies, excepto en la época de lluvias. Independientemente de la profundidad de la columna de agua y la estación del año; el índice de Shannon no mostró una mayor distribución de organismos (0.3844 a 0.8886) independientemente de la profundidad de la columna de agua y la temporada de colecta. En general, el índice de equidad mostró que todas las especies fueron igualmente abundantes en todos los períodos estacionales, los valores más altos se observaron en la porción superficial y media de la columna del agua. En al menos una capa de la columna de agua se encontraron diferencias entre las variables limnológicas de todas las estaciones. **Conclusiones:** Las fluctuaciones en las comunidades de rotíferos de lago Amapá, estuvieron influenciado por los períodos estacionales, lo cual determinó un patrón diferencial en la distribución de las especies a través del tiempo.

Palabras clave: abundancia, meandro abandonado, precipitación, zooplancton

INTRODUCTION

In almost every aquatic habitat, we find communities of zooplankton, including Rotifera. Zooplankton are considered to be some of the most important organisms on earth due to the food supply they provide to most aquatic life (Wetzel & Likens, 2007). Rotifers are found in different gradients of salinity and in waters of varying depths. Temporal changes in the community structure of the Rotifera assemblage are related to hydrologic phases and seasonal cycles (Frutos, 1998), and species habitat preference (De Azevedo & Costa Bonecker, 2003) for tropical lakes, which are centers of biodiversity (Lewis Jr., 2000).

The hydrological regime is reported to be one of the causes that determine community structure and biodiversity over time (Magalhães et al., 2009; Costa et al., 2013). However, we ought to know more about the influence of rainfall on the community structure, considering that many studies consider only two seasons, rainy and dry or summer and winter (Sampaio & Lopes, 2000; De Carli et al., 2017).

The seasonal variations of water levels favor the occupation of different lowland habitats that remain isolated or in connectivity, according to the season of the year, thereby providing an exchange of species between river and lake. The floodplains promote the relocation of organisms to new habitats within a period that can vary from days to weeks (Arrington & Winemiller, 2006). Changes in species richness can lead to losses of zooplankton in large quantities and impacts on succession.

The zooplankton make extensive vertical excursions through the water column (Mann, 2004) and are subject to the influence of several factors such as rainfall, temperature, water oxygen availability, pH, and electrical conductivity, which act together or separately, and may cause fluctuations in the communities, where according to Bodin and Norberg (2007), individuals within the compartments can benefit from neighboring stratum resources.

Approximately 40% of tropical lakes originate from rivers (Lewis Jr., 1996). Tropical lakes are thus part of the floodplains and are specific ecosystems with frequent interactions between land and water (Junk, 1999; Arrington & Winemiller, 2006). Floodplain lakes are considered dynamic systems, influenced by rainfall, which change with the effects of fluctuations in the water level or pulses throughout the year; they are mainly seasonal. Oxbow lakes, typical environments of the floodplain (Junk & Welcomme, 1990), are major components of Amazon watersheds, which are subject to seasonal changes and become more pronounced when considering biotic factors, such as the movement of individuals, species multiplication, and predation.

In this study, we focus on testing the hypothesis that the seasonal changes in alpha diversity and abundance (standing stocks) of Rotifera, considering also limnological variables, are mainly related to rainfall patterns. We hypothesize that 1) The diversity of Rotifera in Lake Amapá is different in the various layers of the water column; 2) The community structure is affected by precipitation due to changes in the water level; 3) Different species are dominant during different seasons.

MATERIALS AND METHODS

Study area. Lake Amapá is located within the municipality of Rio Branco, Acre State (Fig. 1), in southwestern Amazonia ($10^{\circ} 2' 36''$ S and $67^{\circ} 50' 24''$ W). The lake is about 6 km in length and is surrounded by dense

tropical forest and areas disturbed by deforestation (40%); therefore, there is an input of organic matter from the forest to the lake (Keppler & Hardy, 2004a).

This oxbow lake is located at the floodplain of the Acre River, characterized as white and turbid water (Philips et al., 2008), originating in Peru at approximately 300 m.a.s.l. The river has a length of 1190 km and flows to 100 m on the right bank of the Purus River in the city of Boca Acre, Amazonas State.

Fluctuations in the water level are also characteristic of Lake Amapá, changing the hydrometric levels by the influence of hydrological periods. Figure 2 shows the three distinct phases of the hydrological cycle considered in the study.

The sub-basin of the Acre River is located in the depression of Acre River, and has predominantly sedimentary rocks of lacustrine and fluvial origin, making soils extremely poor (Fittkau et al., 1975). Their geographic positioning indicates that the region emerged during the Pliocene to Pleistocene (Araújo et al., 2005).

The fish diversity in Lake Amapá is high; between 2008 and 2009, 2,131 fish were collected, belonging to 53 species, 18 families, and five orders (Silva et al., 2013). According to Pereira et al. (2011) and Silva et al. (2013), the lake is largely predominated by small species such as *Hypoptopoma gulare* (Siluriformes) and medium-size species such as *Triportheus curteus* during the dry season.

According to the Köppen climate classification, the climate can be characterized as hot and humid (Peel et al., 2007). This is due to the Intertropical Convergence Zone in the region (Cox & Moore, 2010). Monthly data on rainfall and air temperature in the study area were obtained from the website <http://sinda.crn2.inpe.br/PCD/SITE/novo/site/index.php>. At this site, we found that with regard to air temperature, June (2009) and September (2009) showed the lowest and highest values, respectively, of 28.4°C and 29.5°C .

Hydrologic Regime. In this study, we define a model based on rainfall with four seasons: very rainy, rainy, dry, and very dry. The model was divided into four seasons throughout the year based on these values: Very rainy (January, February, March, April); Dry (May, June, July); Very dry (August, September), Rainy (October, November, December).

Zooplankton. Qualitative zooplankton sampling was conducted between October 2008 and September 2009 at three sampling stations in the pelagic region of the lake. Quantitative zooplankton samples were obtained between November 2008 and September 2009, covering the four seasons. Rotifera were collected with a submerged motorized pump, such that 200 liters of water were filtered in the water column using a plankton net with a 55-µm mesh for qualitative analysis, amounting to 36 samples. Quantitative samplings were also carried out at three vertical strata, with a Van Dorn bottle: surface, middle, and bottom, totaling 103 samples. The samples at the water surface were collected from the water column at the surface (S) just 0.15 m below the surface layer, in the middle (M) at the midpoint of the water column, and at the bottom (B), which we considered to be 0.20 m above the sediment (Passarinho et al., 2013).

Samples for zooplankton quantitative and qualitative analyses were stored in 300 ml glass vials, fixed, and preserved with 4% formaldehyde. Species richness of the zooplankton community was determined using a light microscope and specialized literature, such as Koste

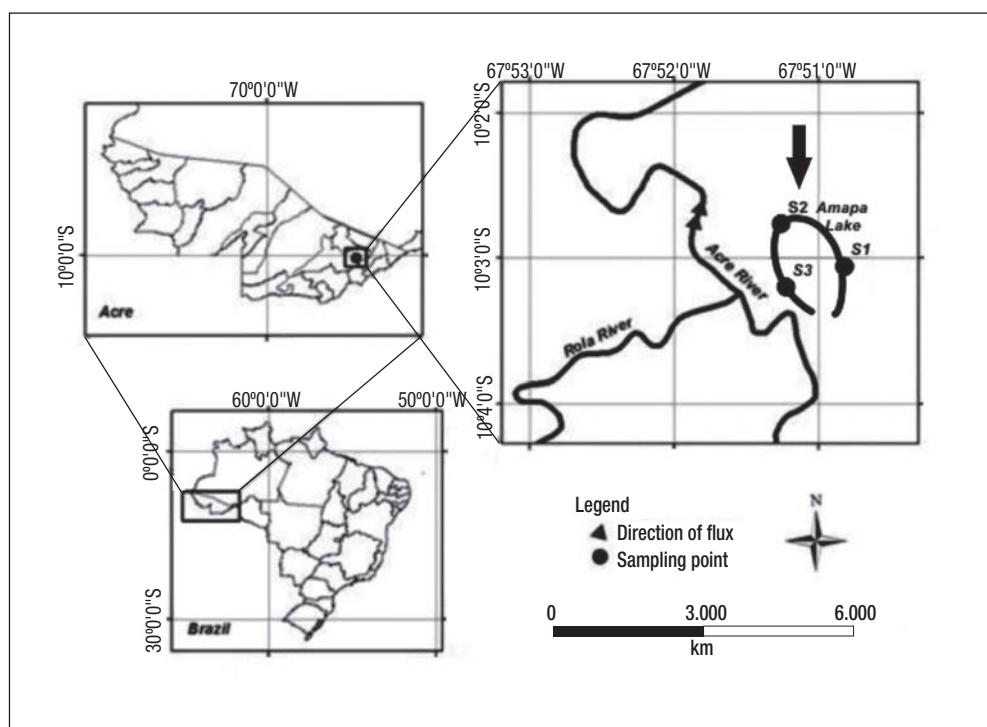


Figure 1. Location of Lake Amapá and sampling stations: S1, S2, and S3. Lake Amapá is located in Rio Branco municipality, Acre State, Amazonia, Brazil.

(1978), Koste & Hardy (1984), and Segers (1995). The quantitative zooplankton was estimated following recommendations in Wetzel & Likens (1991), who report analyses made with a Sedgwick-Rafter counting chamber (1 mL) under a light microscope. A minimum of 80 individuals (Bottrel *et al.*, 1976) of the most abundant taxa were counted. The entire sample was inspected for rare species. Quantitative final enumeration has been expressed using ind. L^{-1} .

The frequency of occurrence (F_0) of the species was calculated considering the ratio of the number of samples in which the organism was identified and the total number of samples collected, in accordance with Mateucci and Colma (1982). The following classification categories were considered: very common $\geq 70\%$, frequent $>40\%$ and $< 70\%$, infrequent $>10\%$ and $<40\%$, sporadic or rare $< 10\%$.

Between November 2008 and September 2009, we conducted monthly physical and chemical analyses at three stations. Limnological variables were measured: Transparency (Secchi disc in cm), depth temperature, pH, and electrical conductivity with a YSI limnological probe, while also considering the limnological variables at the surface, middle, and bottom. These variables were used to compare the Rotifera with the seasons.

Species Richness of Rotifera. The degree of significance of all values for the Rotifera diversity in four seasons was calculated with an analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's *post hoc* Test. We used Multiple Linear Regression Analysis (r^2) for the analyses of correlation between the rainfall and the diversity of Rotifera variables at each station. All these values were also calculated utilizing the Past statistics package, version 3.x. (Hammer *et al.*, 2001).

Species Diversity and Abundance of Rotifera. The Menhinick index (Menhinick, 1964) was calculated, considering the relative proportion of a particular species in the sample. The specific diversity was estimated by the Shannon-Wiener index (H'). The values for the Shannon-Wiener index are between 0 and 1; values >0.5 indicate a more uniform proportion of the individuals among the species (Ludwig & Reynolds, 1988). The equability J index (Pielou, 1966) considers the relative proportion of this species in the samples. The Simpson index is a measure of evenness (Magurran, 2004). All these values were calculated utilizing the Past statistics package, version 3.x. (Hammer *et al.*, 2001).

Using an analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* Test, we calculated the degree of significance of all values for the Rotifera and limnological variables at the surface, middle, and bottom of the water column over four seasons. We also ran a nonparametric Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison test when the assumptions of normality (Shapiro-Wilk) and homoscedasticity (Levene) for the ANOVAs were not achieved with a transformation of data (\log_{10}). All these values were calculated utilizing the Bioestat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007).

Spearman's coefficient was used, and we adopted a 5% significance level to test the correlation between the limnological variables with the abundance of rotifers in each layer of the water column, within each season.

RESULTS

Hydrologic Regime. Figure 3 shows the four season divisions. Between October 2008 and September 2009, the maximum and mini-

mum values of rainfall occurred in November 2008 (118.77 mm) and September 2009 (10.15 mm), respectively.

Species Richness of Rotifera. Fifty-seven species of rotifers were identified. The rotifers were represented by 17 families listed in Table 1 with Brachionidae (12) and Trichocercidae (6) showing the largest number of taxa.

The most frequent species found throughout the study were *Brachionus calyciflorus calyciflorus*, *Brachionus havanaensis*, and *Filinia opoliensis* at 83%, *Trichocerca similis* had a frequency of 67%, while

the species *Brachionus dolabratus*, *Filinia novaezealandiae*, *Keratella americana*, and *Keratella cochlearis* registered a frequency of 58%, and *Filinia pejeleri* had a frequency of 42% (Table 1).

Less frequent species were *Keratella tropica*, *Brachionus calyciflorus calyciflorus*, *Filinia novaezealandiae*, and *Trichocerca tenuior* at 33%, while *Brachionus plicatilis*, *Brachionus caudatus*, *Tricocerca bicristata*, and *Trichocerca montana* registered 25%.

The following species were in low abundance with a frequency of 17%: *Asplanchna brightwelli*, *Asplanchna sieboldi*, *Brachionus hava-*

Table 1. Rotifera in Lake Amapá between October 2008 and September 2009. FO (%) = Occurrence frequency.

Phylum Rotifera, Orden Rotaria	FO (%)	FO (%)	
Family Asplanchnidae		Family Gastropodidae	
<i>Asplanchna brightwelli</i> Gosse, 1950	8	<i>Ascomorpha ovalis</i> Bergendal, 1892	8
<i>Asplanchna sieboldi</i> Leydig, 1854	8	<i>Ascomorpha</i> sp.	17
<i>Asplanchna</i> sp.	8	Family Keratellidae	
Family Brachioniidae		<i>Keratella americana</i> Carlin, 1943	58
<i>Brachionus calyciflorus anuraeformis</i> Brehm, 1909	83	<i>Keratella cochlearis</i> Plate, 1886	58
<i>Brachionus calyciflorus</i> Pallas, 1766	8	<i>Keratella tropica</i> Apstein, 1907	25
<i>Brachionus caudatus</i> Barrois and Daday, 1894	8	Family Lecanidae	
<i>Brachionus dolabratus</i> Harring, 1914	58	<i>Lecane curvicornis</i> Murray, 1913	8
<i>Brachionus falcatus</i> Zacharias, 1898	33	<i>Lecane elsa</i> Hauer, 1931	8
<i>Brachionus havanaensis</i> Rousselet, 1911	83	<i>Lecane luna</i> O.F. Muller, 1776	8
<i>Brachionus plicatilis</i> O. F. Muller 1786	17	<i>Lecane lunaris</i> Ehrenberg, 1832	8
<i>Brachionus urceolaris</i> O. F. Muller, 1773	8	Family Lepadellidae	
<i>Cephalodella gibba</i> Ehrenberg, 1938	8	<i>Lepadella ovalis</i> O. F. Muller 1786	8
<i>Cephalodella</i> sp.	25	<i>Lepadella</i> spp.	16
<i>Notholca</i> spp.	74	Family Notomatidae	
<i>Paranuraeopsis</i> sp.	8	<i>Notomma</i> sp.	8
<i>Platonus patulus</i> O.F. Muller, 1786	8	Family Proalidae	
<i>Platyias quadricornis</i> Ehrenberg, 1832	8	<i>Proales</i> sp.	17
Family Colurellidae		Family Synchaetidae	
<i>Colurella</i> sp.	8	<i>Polyarthra</i> sp.	8
Family Epiphanidae		<i>Polyarthra vulgaris</i> Carlin, 1943	8
<i>Epiphantes macrourus</i> Barrois and Daday, 1894	8	Family Testudinellidae	
<i>Epiphantes</i> sp.	8	<i>Testudinella tridentata</i> Smimov, 1931	8
Family Euchlanidae		<i>Testudinella patina aspi</i> Carlin, 1939	8
<i>Euchlanis dilatata</i> Ehrenberg, 1832	8	<i>Testudinella</i> sp.	8
Family Filiniidae		Family Trichocercidae	
<i>Filinia longiseta</i> Ehrenberg, 1834	17	<i>Trichocerca bicristata</i> Gosse, 1886	8
<i>Filinia pejeleri</i> Hutchinson, 1986	42	<i>Trichocerca chattoni</i> Beuchamp, 1907	17
<i>Filinia opoliensis</i> Zacharias, 1898	83	<i>Trichocerca montana</i> , Hauer, 1956	8
<i>Filinia</i> sp.	17	<i>Trichocerca myersi</i> , Hauer, 1931	8
<i>Filinia novaezealandiae</i> Plate, 1886	58	<i>Trichocerca tenuior</i> Gosse, 1886	25
Family Flosculariidae		<i>Trichocerca similis</i> Wierzejski, 1893	67
<i>Beuchampiella eudactylota</i> Gosse, 1886	8		
<i>Floscularia</i> sp.	8		

naensis, *Notholca* sp. 2, *Notholca* sp. 3, *Paranuraeopsis* sp., *Platyias quadricornis*, *Cephalodella gibba*, *Colurella* sp., *Epiphanes* sp., and *Euchlanis dilatata*.

The number of species ranged from 1 to 11 over the months (Fig. 4). There was no significant difference in the diversity of rotifers between the seasons tested ($F = 1.67$, $p = 0.1931$). There was also no significant correlation between the diversity of rotifers and rainfall at the three stations (S1: $p = 0.5603$, $r^2 = 0.16$; S2: $p = 0.5393$, $r^2 = 0.13$; S3 = $p = 0.6032$, $r^2 = 0.10$).

With regard to abundance (Figs 5a-c), the highest values occurred in August 2009 (very dry season), at the surface (382 ind. L^{-1}), middle (280 ind. L^{-1}) and bottom (302 ind. L^{-1}) layers, showing that in August a homogeneous pattern distribution existed in the water column, also coinciding with one of the lowest amounts of rainfall. The high Menhinick index revealed high species dominance, except in the rainy season, reaching 1.35 in the layer surface in the dry season (Fig. 6b).

The Shannon index did not show a greater distribution of organisms (0.3844 to 0.8886) independent of the layer (Fig. 6a) and time season. The lower values occurred in the very dry season (Surface = 0.5579; Middle = 0.5825; Bottom = 0.5703).

In general, the equitability index showed that all species were equally abundant in all seasons, with higher values at the surface and in the middle of the water column (Fig. 6c).

Significative differences for the Rotifera were found between the rainy and dry seasons, but only at the bottom (Table 2). The limnological variables also showed differences between all the seasons in at least a layer of the water column (Table 2).

In the dry season, correlation between Rotifera and pH was significant ($r_S = 0.8000$; $p < 0.05$) in the middle of the water column and, also in this layer, between Rotifera and dissolved oxygen (%) ($r_S = 0.7166$; $p < 0.05$). In the very rainy season, the dissolved oxygen also showed a significant correlation with bottom-dwelling rotifers ($r_S = 0.7619$; $p = 0.7619$), and, during the very dry season at the bottom, there was also a significant correlation between Rotifera and dissolved oxygen ($r_S = 0.9000$; $p < 0.05$).

At the surface in the rainy season, there were several peaks, especially for *Brachionus falcatus* (110 ind. L^{-1}) in November 2008 at S1 and *Filinia opoliensis* (180 ind. L^{-1}) in January 2009 at S2. At the end of the very dry season, *Filinia opoliensis* reached a peak of 210 ind. L^{-1} in September 2009 at S2, followed by *Brachionus falcatus* (140 ind. L^{-1}) in August 2009 at S1.

Filinia opoliensis was highest with 180 ind. L^{-1} followed by *Filinia pejeleri* (120 ind. L^{-1}), both in November 2009 at S2. Finally, *Brachionus falcatus* registered 105 ind. L^{-1} in November at S1 in the rainy season. In the dry season, *Filinia opoliensis* also exhibited a major peak between 170 ind. L^{-1} in July at S3 and 210 ind. L^{-1} in September at S2 followed by *Brachionus falcatus* with 85 ind. L^{-1} (August 2009) at S1. The Simpson index reached 1 in the dry season, just at the surface, since this stratum is considered to have higher diversity (Fig. 6d).

The highest peaks were for *Filinia opoliensis* (290 ind. L^{-1}) in September 2009 in S3 and *Brachionus falcatus* (190 ind. L^{-1}) in August 2009, both of which occurred in the dry season.

The other organisms had sporadic abundance in the lake and at any specific station throughout the study period. *Brachionus calyciflorus*

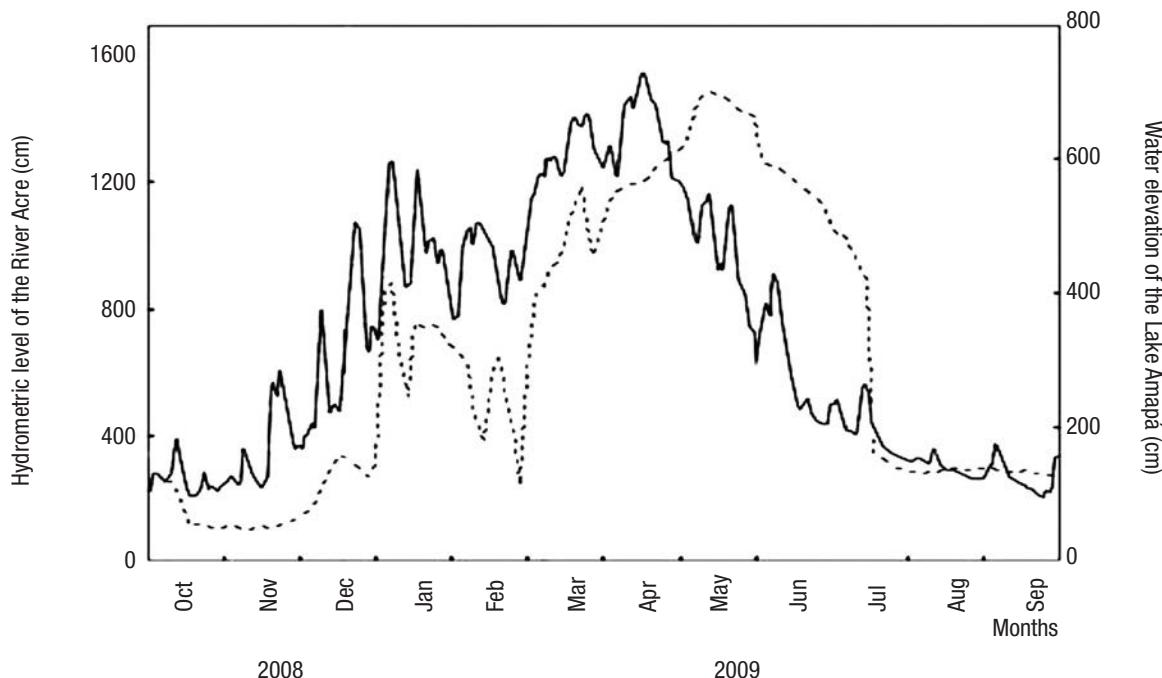


Figure 2. Daily variation in river level (solid line) and oscillation of the water level in Lake Amapá (dashed line), Rio Branco municipality, Acre State, Amazonia, Brazil, between October 2008 and September 2009. Source: Silva *et al.* (2013) modified.

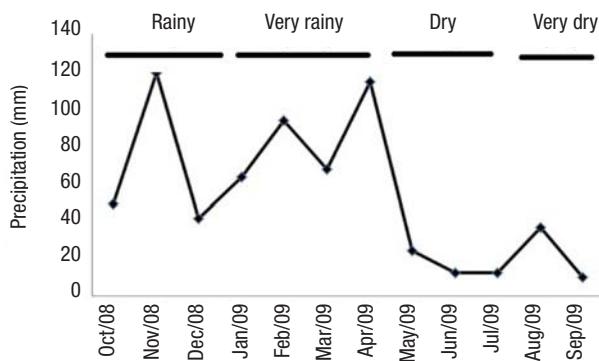


Figure 3. Precipitation at Lake Amapá (Rio Branco, Acre), between October 2008 and September 2009 in Rio Branco municipality, Acre State, Amazonia, Brazil.

rus showed peaks in November and January 2009 (rainy season and very rainy season), at station S1 (100 ind. L⁻¹). *Brachionus havanensis* showed peaks in January 2009 at S1, respectively 50, 55, and 40 ind. L⁻¹ at the surface, middle, and bottom layers. *Keratella americana* showed peaks of 65 ind. L⁻¹ and 104 ind. L⁻¹ at the surface and throughout the water column in July 2009 (dry season). There was a peak for *Trichocerca tenuior* of 65 ind. L⁻¹ at the middle of the water column (S1) in September 2009 (very dry season).

Limnological Variables. In general, the variables showed little change, except the variables of depth, transparency, and dissolved oxygen (Figs

7a-g). The only difference occurred with electric conductivity, which showed significant differences between the dry and rainy seasons (Table 2).

DISCUSSION

The distribution of rainfall is a limiting factor in aquatic ecosystems (Junk, 1999). It defines the seasonal cycle and directly influences ecosystem dynamics, because the rainfall pattern is responsible for water level fluctuation, i.e., the main force driving the lives of the aquatic organisms and the water characteristics of the environments and others associated with them, mainly those situated in its alluvial plain.

Several studies on limnology in the Amazon consider only two seasonal periods (Keppeler & Hardy, 2004a,b; Martins *et al.*, 2006; Magalhães *et al.*, 2009; Philips *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2013; Passarinho *et al.*, 2013), but we have observed several intensities of rainfall throughout the year. This results in different categories that are reflected in the changes in precipitation in the lake water level. Recently, in studies in Lake Amapá, Silva *et al.* (2013) showed that water level oscillations resulted in the following: (i) pre-flooding or rising water (between October and December 2008), in which the lake was isolated from the river; (ii) minor flood (between January and March 2009), in which the lake was permanently connected to the river and when the river level reached 1260 cm; (iii) major flood (between April and June 2009), in which the lake was permanently connected to the river and when the river level reached 1550 cm; and (iv) post-flooding (between July and September 2009), in which the lake was disconnected from the river due

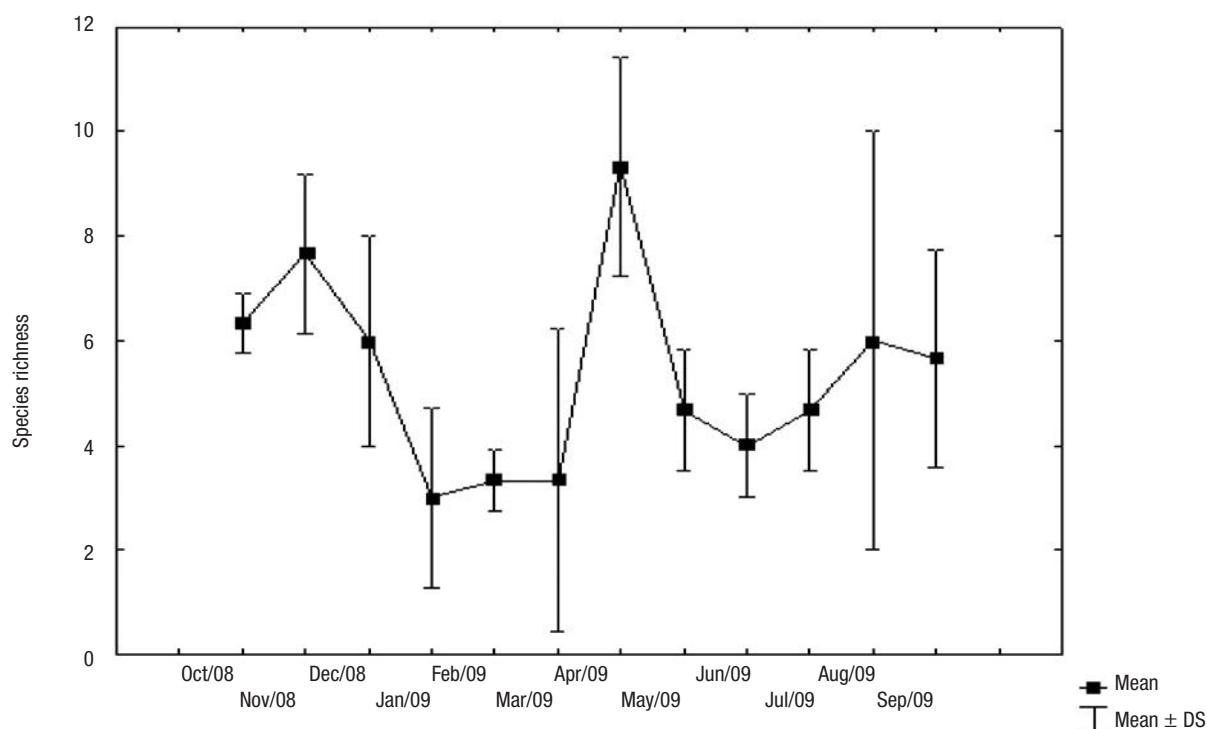


Figure 4. Species richness of rotifers in Lake Amapá between October 2008 and September 2009, Rio Branco municipality, Acre State, Amazonia, Brazil. Refer also to the three collection stations.

to the fall of water. Pereira *et al.* (2011) also asserted that this lake was isolated from the river during the entire dry season and connected only during the flood period. From October–December, Lake Amapá is isolated from the Acre River (Silva *et al.*, 2013), limiting the flow of species to the environment and promoting the migration of species from river to lake or among lakes in the same floodplains, because during the rainy period, the river water enters the lake through the northeast channel.

From more than 250 species of Rotifera listed for the Amazon by Robertson & Hardy (1984), in this study we found 57 species or about 23% for the Amazonia. This number (57) was higher than that encountered by Keppeler (2003) and Keppeler & Hardy Rodrigues (2004b). Comparing our results with other studies of the Legal Amazonia and the surroundings, which cover the Cuiabá River, we find that this number was a little lower than that for Lake Souza Lima (71 species) and higher than that for Lake Parque Atalaia (17 species), both studied by Neves *et al.* (2003). Those are marginal lakes of the Cuiabá River, revealing that the diversity in these systems can vary greatly. The reason for higher

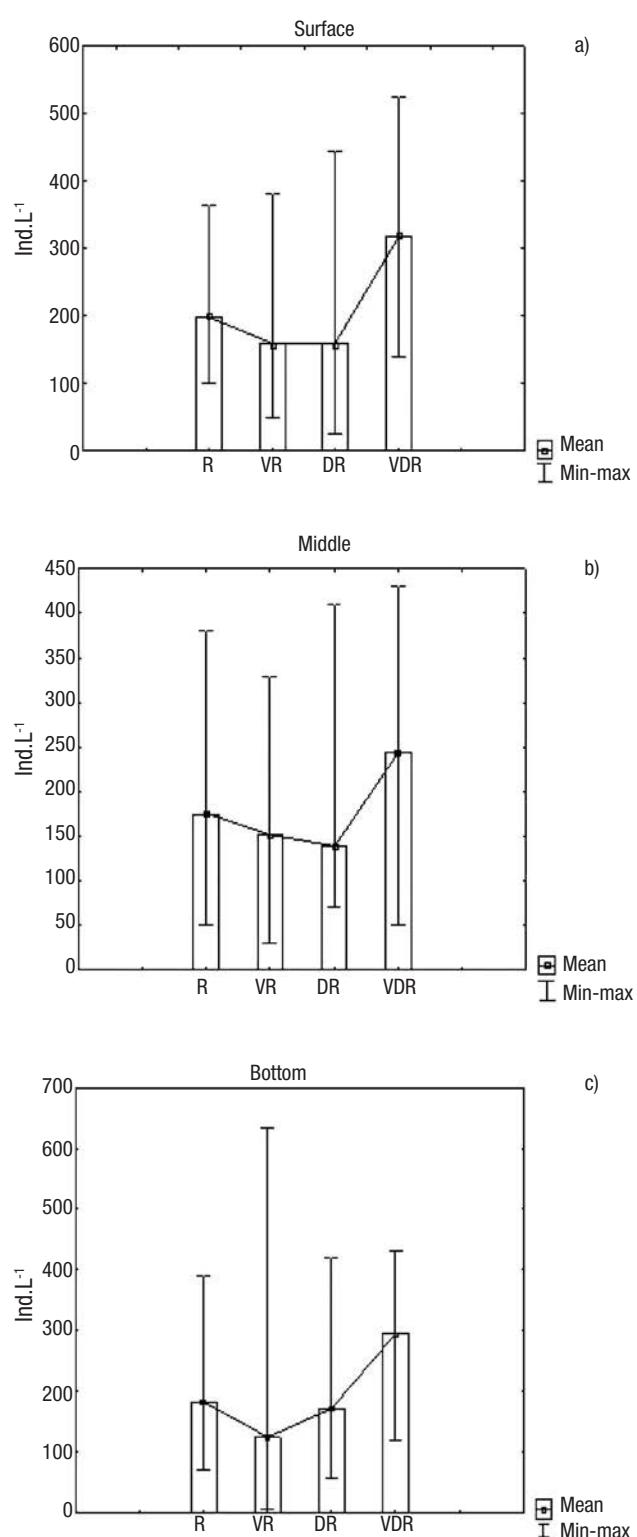
richness is that the lakes of the flood plain are heterogeneous (Lansac-Tôha *et al.*, 2009). This happened possibly due to rainfall and the flood that occurred during the year.

The common families in this study were Brachionidae and Trichocercidae. Silva *et al.* (2012), studying the small Jesumira River located within the Serra National Park of Divisor, also found these families to be the most representative. High numbers of diversity for these families have also been cited in other environments of the Amazon region: *Trichocerca* by Brandorff & Koste (1982), Nova *et al.* (2014), and *Brachionus* by Koste & Hardy Rodrigues (1984). Brachionidae was also the richest species according to De Paggi *et al.* (2012), who investigated a shallow lake in a floodplain in Argentina. These families are widely distributed in South America.

Regarding the *Lecane* species, although Sharma & Hatimuria (2017) report on a tropical environment, in our study the low diversity and density is perhaps due to the fact that there were not habitats as macrophytes to shelter and protect for this species in lake studied.

Table 2. Results of one-way ANOVAs, Kruskall Wallis* and Post hoc (Tukey and Dunn*) applied to Rotifera and limnologic variables of the Amapá Lake during seasonal periods between November 2008 and September 2009.

	F or H'	p	Tukey or Dunn			
			Rainy	Very rainy	Dry	Very dry
Abundance of Rotifera						
Surface	2.71	0.0621				
Middle	0.63	0.6024				
Bottom*	3.456	0.0296	AB	A	AB	B
Limnological variables						
Temperature						
Surface*	16.51	< 0.0001	A	B	C	AB
Middle*	13.58	< 0.0001	A	B	BC	AD
Bottom*	14.68	0.0021	A	AB	AB	AC
Dissolved oxygen (%)						
Surface	1.82	0.1658				
Middle	0.1031	0.9568				
Bottom	14.68	0.0021	A	A	A	AB
Dissolved oxygen (mg.L ⁻¹)						
Surface	2.4688	0.0855				
Middle*	21.9721	0.0001	A	A	B	A
Bottom	4.3567	0.2254				
pH						
Surface*	13.31	0.0040	A	AB	AC	ABC
Middle*	19.17	< 0.0001	A	A	B	C
Bottom*	14.93	0.0019	A	A	A	AB
Electrical conductivity						
Surface	28.35	< 0.0001	A	B	BC	BCD
Middle*	21.97	< 0.0001	A	A	B	A
Bottom*	20.13	< 0.0001	A	BD	CD	D
Transparency						
Depth*	6.9431	0.0737				
Depth*	6.73	0.0017	A	B	A	AC



Figures 5a-c. Abundance of Rotifera at the surface (a), middle (b), and bottom (c) of the water column during four seasons in Rio Branco municipality, Acre State, Amazonia, Brazil. R = Rainy; VR = Very rainy; DR = Dry; VDR = Very dry.

During the course of the year in Sul Ocidental Amazonia, the water chemistry influenced the alpha diversity and standing stock (abundance) of Rotifera (Koste & Hardy Rodrigues, 1984). As we have seen in this study, the rainfall controls the distribution of Rotifera in the lake, which negatively affects abundance with marked differences between the dry and rainy periods.

Seasonality plays a key role in the zooplankton community structure, an aspect that was studied by Martins *et al.* (2006) and Negreiros *et al.* (2010). The standing stocks of rotifers decreased in the rainy season. Rains bring nutrients capable of maintaining a high production of zooplankton in the rivers, whose surplus diversity can be exported to surrounding environments, such as the lakes.

Generally during the rainy season, there was a 33% reduction in the abundance of Rotifera. In addition, the low standing stocks observed in the very rainy season are probably due to the prevailing poor oxygen conditions and, in a context of extreme floods, the currents. The standing-stock development is low in the very rainy season and is similar to that observed in other lakes in Amazonia (Carvalho, 1983; Koste & Hardy Rodrigues, 1984).

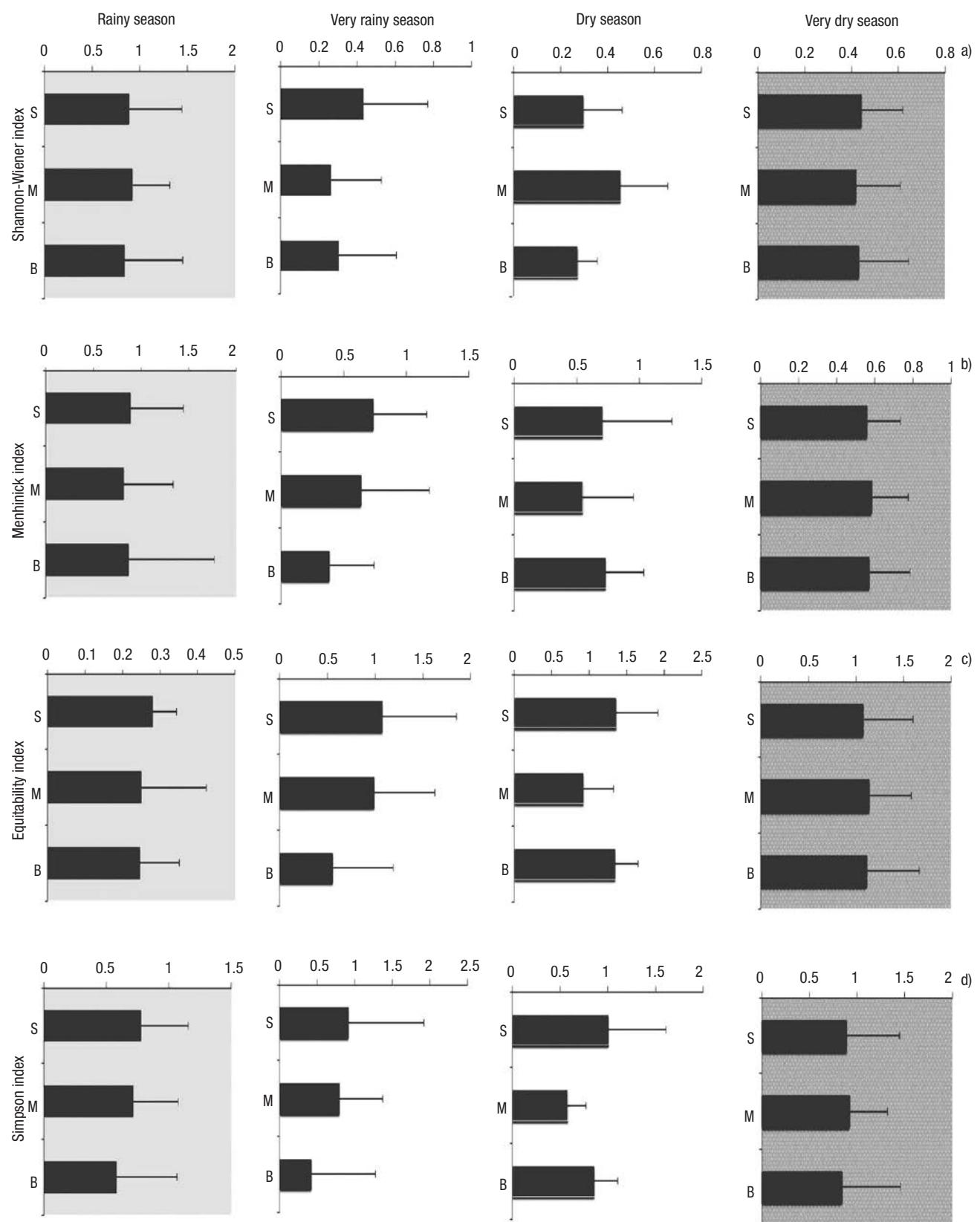
Indirect effects, such as rainfall, which cause pulses in the lake, can explain the reverse migration of zooplankton. In general, the species were distributed homogeneously in the water column. If a lake is relatively shallow, a large proportion of the water column has enough light to support photosynthesis (Mann, 2004).

The species *Brachionus falcatus*, *Filinia opoliensis*, and *Filinia pehleri* contributed most of the standing stocks. In this study, rotifers had correlation with acidity. These genera and/or species were also observed in other relatively acidic environments (pH = 5.70 to 7.11) in floodplain lakes of the Caura River, Venezuela, corroborating the results of Reverol *et al.* (2008).

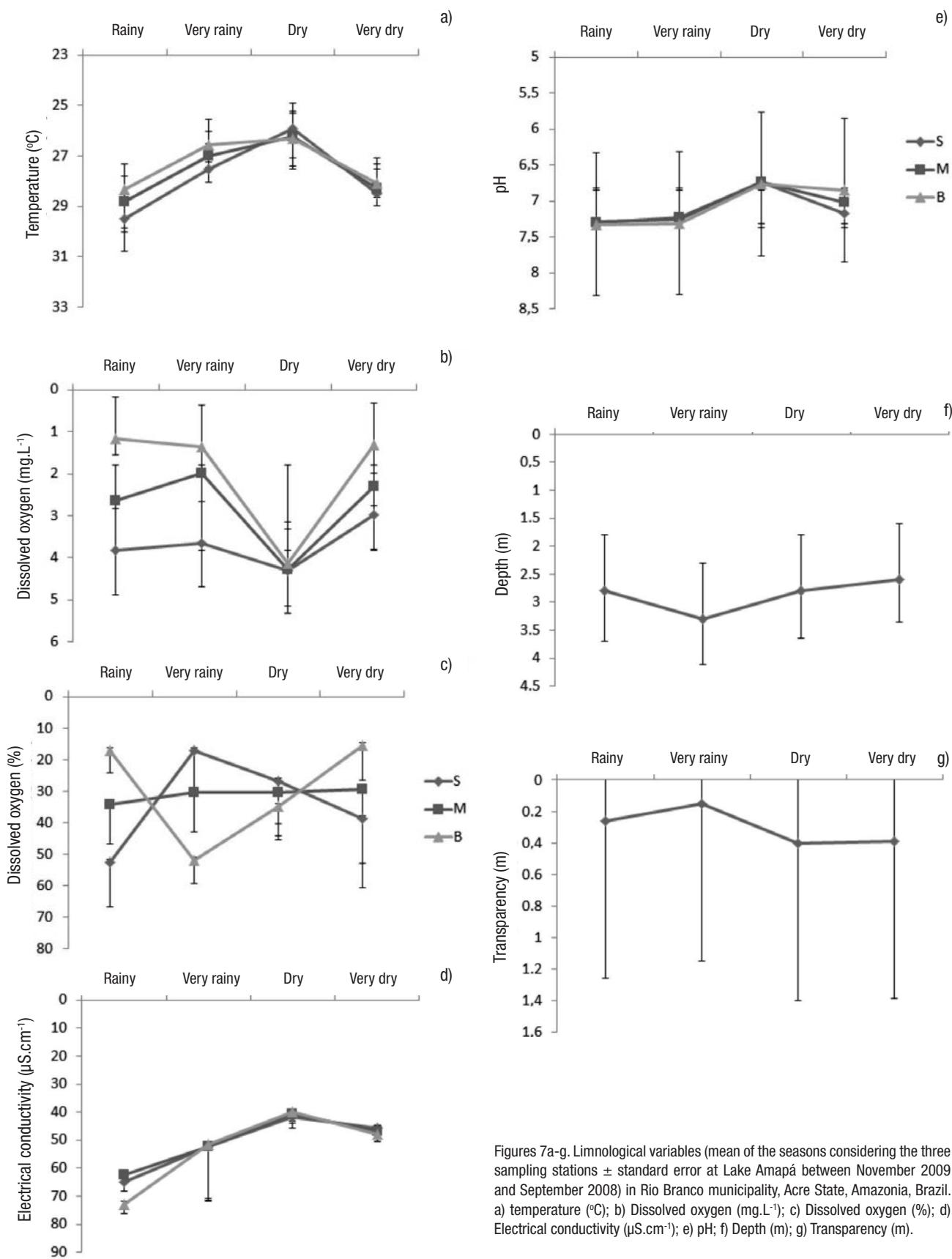
The rotifers in the lake varied in size from 40 to 2000 µm. In experimental laboratory conditions it was observed that the population of *Asplanchna* increases with the availability of *Brachionus* in the medium (Sarma *et al.*, 2003), and the rate of population increase (*r*) rises with increasing temperature to 25 °C (Pavón-Meza *et al.*, 2005) or greater than 25 °C. Such conditions favored the growth of *Asplanchna* species in the study (Keppler, 2003; Keppler & Hardy Rodrigues, 2004a).

The values of dissolved oxygen were generally low (0.45 to 3.95 mg.L⁻¹), especially in the rainy and very rainy period, indirectly showing low food availability. In marginal lakes, food availability is lower in the rainy season, because the phytoplankton also decrease in abundance, which is also caused by dilution, resulting from the increase in the water level. The lower residence time of the water in the lake during the rainy season also contributes to this (De Paggi & Paggi, 2007). The dissolved oxygen also showed that there may be decomposition in the lake throughout the year. This event produces toxic products that may interfere in the establishment of zooplankton populations, contributing to low diversity.

The pH was already slightly acid to neutral, independent of the seasons of our study. It is noteworthy that decomposition conditions are generally acidic. However, these values do not allow the development of plankton communities; thus, at this pH, the inorganic ions dissolved in water were possibly insufficient for the further development of the community.



Figures 6a-d. Diversity index of rotifers in Lake Amapá, between November 2008 and September 2009, in Rio Branco municipality, Acre State, Amazonia, Brazil. a) Shannon-Wiener index; b) Menhinick index; c) Equitability index ; d) Simpson index.



Figures 7a-g. Limnological variables (mean of the seasons considering the three sampling stations \pm standard error at Lake Amapá between November 2009 and September 2008) in Rio Branco municipality, Acre State, Amazonia, Brazil. a) temperature ($^{\circ}\text{C}$); b) Dissolved oxygen (mg.L^{-1}); c) Dissolved oxygen (%); d) Electrical conductivity ($\mu\text{s.cm}^{-1}$); e) pH; f) Depth (m); g) Transparency (m).

In summary, the level of precipitation influences fluctuations in the communities of Rotifera at Lake Amapá and is responsible for seasonal variation. Rainfall influenced the species diversity of rotifers, expressed by various indices in this study. The diversity of Rotifera in Lake Amapá did not follow a uniform standard for different layers of the water column. In general, diversity was highest in the middle of the water column.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank William Monteiro Ayache (Centro de Ciências Biológicas da Natureza) for his help with the collections and Susana B. José de Paggi (Centro de Ecología Aplicada del Litoral, Santa Fe, Argentina) for her critical reading of the manuscript. We are also most grateful to the people who read the manuscript and provided critical comments, among them Emilio Bruna (University of Florida), Irving Foster Brown (Woods Hole Research Center), and Stephen Perz (University of Florida). We thank Albert Leyva for his English editorial services. We would like to thank the anonymous referees and Associated Editor Nandini Sarma, whose comments and revisions were of great importance.

REFERENCES

- AYRES, M., M. J. AYRES, D. L. AYRES & S. A. SANTOS. 2007. *Bioestat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas*. Belém, Mamirauá/CNPq.
- ARAÚJO, E. A., E. F. AMARAL, P. WADT & J. L. LANI. 2005. Aspectos gerais dos solos do Acre com ênfase ao manejo sustentável. In: WADT, P.G.S. (Org.). *Manejo de solo e recomendação de adubação para o estado do Acre*. Rio Branco: Embrapa/CPAF-Acre, p.p. 10-38.
- ARRINGTON, D. A. & K. O. WINEMILLER. 2006. Habitat affinity, the seasonal flood pulse, and community assembly in the littoral zone of a Neotropical floodplain river. *Journal of the North American Benthological Society* 25 (1): 126-141. DOI: 10.1023/B:HYDR.0000007303.78761.66
- BODIN, Ö. & J. NORBERG. 2007. A network approach for analyzing spatially structured populations in fragmented landscape. *Landscape Ecology* 22 (1): 31-44. DOI: 10.1007/s10980-006-9015-0
- BOTTRELL, H., A. DUNCAN, Z. GLIWICZ, E. GRYGIERK, A. HERZIG, A. HILLBRICHT-ILKOWSKA, H. KURASAWA, P. LARSSON & T. WEGLENZKA. 1976. A review of some problems in zooplankton production studies. *Norwegian Journal of Zoology* 24 (4): 419-456.
- BRANDORFF, G. O. & W. KOSTE. 1982. The composition and structure of rotiferan and crustacean communities of the lower Rio Nhamundá, Amazonas, Brasil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 17 (2-3): 69-121.
- CARVALHO, M. L. 1983. Efeitos da flutuação do nível da água sobre a densidade e composição do zooplâncton em um lago de várzea da Amazônia, Brasil. *Acta amazonica* 13 (5-6): 715-724.
- COSTA, K. G., P. R. S. PINHEIRO, C. A. R. MELO, S. M. O. OLIVEIRA, L. C. C. PEREIRA & R. M. COSTA. 2013. Effects of seasonality on zooplankton community dynamics in the macrotidal coastal zone of the Amazon region. *Journal of Coastal Research*: 64: 364-368.
- COX, C. B. & P. D. MOORE. 2010. *Biogeography: an ecological and evolutionary approach*. Oxford: Blackwell. 18th. 440 p.
- DE AZEVEDO, F. & C. COSTA BONECKER. 2003. Community size structure of zooplankton assemblages in three lakes on the Upper River Paraná floodplain, PR, MS, Brazil. *Hydrobiologia* 505 (1-3): 147-158. DOI: 10.1023/B:HYDR.0000007303.78761.66
- DE AZEVEDO, F. & C. COSTA BONECKER. 2003. Community size structure of zooplankton assemblages in three lakes on the Upper River Paraná floodplain, PR, MS, Brazil. *Hydrobiologia* 505 (1-3): 147-158. DOI: 10.1023/B:HYDR.0000007303.78761.66
- DE CARLI, B. P., J. C. L. DOVAL, E. H. C. RODRIGUES & M. L. M. POMPEO. 2017. Variação espacial e sazonal do zooplâncton nos reservatórios do Sistema Cantareira, Brasil. *Revista Ambiente e Água* 12 (4): 666-679. DOI: 10.4136/ambi-agua.1935 DOI: http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1935
- DE PAGGI, S. & J. C. PAGGI. 2007. Zooplankton. In: Iriondo, M. H., J. C. Paggi & M. J. Parma. (eds). *The Middle Paraná River: Limnology of a Subtropical Wetland*. pp. 229-247.
- DE PAGGI, S. B. J., S. MUÑOZ, D. FRAU, J. C. PAGGI, P. SCARABOTTI, M. DEVERCELLI & M. MEERHOFF. 2012. Horizontal distribution of rotifers in a subtropical shallow lake (Paraná floodplain, Argentina). *Fundamental and Applied Limnology* 180 (4): 321-333. DOI: 10.1127/1863-9135/2012/0245
- FITTKAU, E. J., W. J. JUNK, H. KLINGE & H. SIOLI. 1975. Substrate and vegetation in the Amazon region. In: Dierschke, H. (ed). *Vegetation und Substrat*, Vaduz, J. Cramer. pp. 73-90.
- FRUTOS, S. M. 1998. Densidad y diversidad del zooplankton en los ríos Salado y Negro - Planicie del Paraná - Argentina. *Revista Brasileira de Biología* 58 (3): 431-444.
- HAMMER, Ø., D. A. T. HARPER & P. D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. Available online: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm. (Downloaded February 20, 2012).
- JUNK, W. J. 1999. The flood pulse concept of large rivers: learning from the tropics. *Archiv fur Hydrobiologie, Supplement: Large rivers* 11 (3): 261-280.
- JUNK, W. J. & R. L. WELCOMME. 1990. Floodplains. In: Patten B. C. et al. (eds). *Wetlands and Shallow Continental Water Bodies*, v. 1. *Perspectives in Tropical Limnology*. SBP Academic Publishing. The Hague, The Netherlands. pp. 491-524.
- KEPPELER, E. C. 2003. Comparative study of the zooplankton composition of two lacustrine ecosystems in southwestern Amazonia. *Acta Scientiarum* 25 (2): 471-481. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v25i2.2042
- KEPPELER, E. C. & E. HARDY RODRIGUES. 2004a. Abundance and composition of Rotifera an abandoned meander (Lago Amapá), Rio Branco, Acre, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 21 (2): 233-241. DOI: 10.1590/S0101-81752004000200011
- KEPPELER, E. C. & E. HARDY RODRIGUES. 2004b. Vertical distribution of zooplankton in the water column of Lago Amapá, Rio Branco, Acre

- State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 21 (2): 169-177. DOI: [10.1590/S0101-81752004000200002](https://doi.org/10.1590/S0101-81752004000200002)
- KOSTE W. 1978. *Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas*. Berlin (Germany): Borntraeger. 673 p.
- KOSTE, W. & E. HARDY RODRIGUES. 1984. Taxonomic studies and new distribution records of Rotifera (Phylum Aschelminthes) from Rio Jatapú and Uatamã, Amazonas, Brazil. *Amazoniana* 9: 17-29.
- LANSAC-TÔHA, F.A., C. C. BONECKER, L. F. M. VELHO, N. R. SIMÕES., J. D. DIAS, G. M. ALVES & E. M. TAKAHASHI. 2009. Biodiversity of zooplankton communities in the Upper Paraná River floodplain: interannual variation from long-term studies. *Brazilian Journal of Biology* 69 (2): 539-549.
- LEWIS JR., W. M. 1996. Tropical lakes: How latitude makes a difference. In: Schiemer F. & K. T. Azevedo Boland (eds). *Perspectives in Tropical Limnology*. SPB Academic Publishing, Amsterdam. pp. 43-64.
- LEWIS JR., W. M. 2000. Bases for the protection and management of tropical lakes. *Lakes and Reservoirs: Research and Management* 5 (1): 35-48.
- LUDWIG, J. A. & J. F. REYNOLDS. 1988. *Statistical ecology: a primer on methods and computing*. New York, John Wiley and Sons.
- MAGALHÃES, A., N. R. LEITE, J. G. S. SILVA, L. C. C. PEREIRA & R. M. COSTA. 2009. Seasonal variation in the copepod community structure from a tropical Amazon estuary, Northern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 81 (2): 187-197. DOI: [10.1590/S0001-37652009000200005](https://doi.org/10.1590/S0001-37652009000200005)
- MAGURRAN, A. E. 2004. *Measuring biological diversity*. Oxford, Blackwell Science. 256 p.
- MANN, K. H. 2004. *Organisms and ecosystems*. In: Barnes RSK, Mann KH. Fundamentals of aquatic ecology. Oxford: Blackwell Publishing. p. 3-26
- MARTINS, A. A. V., R. A. M. COSTA & L. C. C. PEREIRA. 2006. Distribuição espaço-temporal da comunidade zooplânctonica de uma lagoa costeira artificial na região amazônica, Bragança, Pará, Brasil. *Boletim Museum Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais* 1 (3): 103-111.
- MATEUCCI, S. D. & A. COLMA. 1982. *Metodología para El estudio de La vegetación*. Washington, D.C, Secretaria General de la OEA. 168 p.
- MENHINICK, E. F. A. 1964. Comparison of some Species Individuals' Diversity Indices Applied to Samples of Field. *Insect Ecology* 45 (4): 859-861.
- NEGREIROS, N. F., M. J. SANTOS-WISNIEWSKI, R. M. SANTOS & O. ROCHA. 2010. The influence of environmental factors on the seasonal dynamics and composition of Rotifera in the Sapucaí River arm of Furnas Reservoir, MG, Brazil. *Biota Neotropica* 10 (4): 173-182.
- NEVES, I. F., O. ROCHA, K. F. ROCHE & A. A. PINTO. 2003. Zooplankton community structure of two marginal lakes of the River Cuiabá (Mato Grosso, Brazil) with analysis of Rotifera and Cladocera diversity. *Brazilian Journal of Biology* 63 (2): 329-343.
- NOVA, C. C., V. G. LOPEZ, L. C. E SOUZA, B. KOZLOWSKY-SUZUKI, T. A. A. PEREIRA & C. W.C. BRANCO. 2014. The effect of seasonality on the structure of rotifers in a black-water shallow lake in Central Amazonia. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 86 (3): 1359-1372. DOI: [10.1590/0001-3765201420130323](https://doi.org/10.1590/0001-3765201420130323)
- PASSARINHO, K. N., M. R. M. LOPEZ & S. TRAIN. 2013. Diel responses of phytoplankton of an Amazon floodplain lake at the two main hydrological phases. *Acta Limnologica Brasiliensis* 25 (4): 361-374.
- PAVÓN-MEZA, E. L., S. S. S. SARMA & S. NANDINI. 2005. Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) food level and temperature on the demography of *Brachionus havanaensis* (Rotifera): a life table study. In: Herzig A., R. D. Gulati, C.D. Jersabek & L. May (eds). *Rotifera X. Developments in Hydrobiology* 181. Springer, Dordrecht.
- PEEL, M.C., B. L. FINLAYSON & T. A. McMAHON. 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences* 11: 1633-1644. DOI: [10.1029/2006GL028098](https://doi.org/10.1029/2006GL028098)
- PEREIRA, J. O., M. T. SILVA, L. J. S. VIEIRA & R. FUGI. 2011. Effects of flood regime on the diet *Triportheus curtus* (Garman, 1890) in an Amazonian floodplain lake. *Neotropical Ichthyology* 9 (3): 623-628. DOI: [10.1590/S1679-62252011005000029](https://doi.org/10.1590/S1679-62252011005000029)
- PHILIPS, E. J., K. HAVENS & M. R. M. LOPEZ. 2008. Seasonal dynamics of phytoplankton in two Amazon flood plain lakes of varying hydrologic connectivity to the main river channel. *Archiv fur Hydrobiologie* 172 (2): 99-109. DOI: [10.1127/1863-9135/2008/0172-0099](https://doi.org/10.1127/1863-9135/2008/0172-0099)
- PIELOU, E. C. 1966. The measurement of diversity in different types of biotic collections. *Journal of Theoretical Biology* 13: 131-144.
- REVEROL, I. M., J. G. DELGADO, C. L. LOPEZ & L. LÁNCHEZ. 2008. Zooplankton community composition in floodplain lakes of Caura River, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 42 (1): 53-72.
- ROBERTSON, B. A. & E. R. HARDY. 1984. Zooplankton of Amazonian lakes and rivers. In: Sioli H. (ed). *The Amazon. Limnology and landscape. Ecology of a mighty tropical river and its basin*. Dr. The Hague, The Netherlands, W. Junk Publishers, p. 337-352.
- SAMPAIO, E. V., O. ROCHA, T. MATSUMURA-TUNDISI & J. G. TUNDISI. 2002. Composition and abundance of zooplankton in the limnetic zone of seven reservoirs of the Paranapanema River, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 62 (3): 525-545. DOI: [10.1590/S1519-69842002000300018](https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000300018)
- SARMA, S., E. L. PAVÓN-MEZA & S. NANDINI. 2003. Comparative population growth and life table demography of the rotifer *Asplanchna girodi* at different prey (*Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis*) (Rotifera) densities. *Hydrobiologia* 491: 309. DOI: [10.1023/A:1024440610204](https://doi.org/10.1023/A:1024440610204)
- SEGERS H. 1995. *Rotifera: the Lecanidae (Monogonta). Guides to the identification of the micro invertebrates of the continental water of the world*. Vol. 6. The Hague, SPB Academic. 226 p.
- SHARMA, B. K. & M. K. HATIMURIA. 2017. Zooplankton Diversity of Three Floodplain Lakes (Beels) of the Majuli River Island, Brahmaputra Ri-

- ver Basin of Assam, Northeast India. *Journal of the Aquaculture and Marine Biology* 6 (1): 00144. DOI: [10.15406/jamb.2017.06.00144](https://doi.org/10.15406/jamb.2017.06.00144)
- SILVA, E. S., E. C. KEPPELER & J. F. SILVERIO. 2012. Composição do zooplâncton do Igarapé Jesumira, localizado no Parque Nacional da Serra do Divisor, Acre, Brasil. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* 33 (2): 201-210. DOI: [10.5433/1679-0367.2012v33n2p201](https://doi.org/10.5433/1679-0367.2012v33n2p201)
- SILVA, M. T., J. O. PEREIRA, L. J. S. VIEIRA & A. C. PETRY. 2013. Hydrological seasonality of the river affecting fish community structure of oxbow lakes: A limnological approach on the Amapá Lake. *Limnologica* 43 (2): 59-142. DOI: [10.1016/j.limno.2012.05.002](https://doi.org/10.1016/j.limno.2012.05.002)
- SINDA (SISTEMA NACIONAL DE DADOS AMBIENTAIS). 2012. *Lista de sensores disponível nas PCDs Agrometeorológicas*. Available online: http://sinda.crn2.inpe.br/PCD/historico/consulta_pcda.jsp. (Downloaded January 20 2012).
- WETZEL, R. G. & G. E. LIKENS. 1991. *Limnological analysis*. W. B. Saunders Company, New York, 391 p.
- WETZEL, R. & G. E. LIKENS. 2007. *Outlines & Highlights for Limnological Analyses: Cram101 Textbook Outlines*. 3rd Edition. United States, Academic Internet Publishers Inc. 156 p.

NOTA CIENTÍFICA

Primer registro del caracol viajero invasor *Melanoides tuberculata* (Gastropoda: Thiaridae) en San Luis Potosí, México

First record of the invasive exptoc snail *Melanoides tuberculata* (Gastropoda: Thiaridae) in San Luis Potosí, Mexico

Romeo Tinajero^{1*}, Alejandra Partida-Pérez² y María Pamela Bermúdez-González³

Recibido: 27 de febrero de 2018.

Aceptado: 05 de octubre de 2018.

Publicado: 14 de diciembre de 2018.

RESUMEN

Antecedentes: El caracol viajero o malasio *Melanoides tuberculata* Müller, 1774, es un especie dulceacuícola originaria de Asia y África. Esta especie de caracol se ha comercializado por la actividad de acuarismo; sin embargo, por desgracia, se han presentado liberaciones accidentales y deliberadas de individuos en lugares donde no existían, lo cual ha provocado un incremento en su distribución mundial. En México, desde 1973 se ha documentado la presencia de poblaciones silvestres en diferentes estados del país.

Objetivos: Documentar el primer registro de la presencia de la especie en el estado de San Luis Potosí, México.

Métodos: Durante los años de 2015 a 2018 fueron muestreados diferentes cuerpos de agua permanentes en el altiplano potosino y la región media del estado de San Luis Potosí para registrar la presencia o ausencia de la especie.

En los sitios donde se registró la presencia de caracoles se procedió a colectar algunos ejemplares, los cuales fueron utilizados para las identificaciones taxonómicas y después resguardados en la Colección Nacional de Moluscos del Instituto de Biología (UNAM). **Resultados:** El 16 de junio de 2017 en un canal próximo al poblado de San Francisco de Asís, municipio de Rioverde, se registró la presencia de individuos vivos del caracol viajero. **Conclusiones:** El presente estudio contribuye al conocimiento de la dispersión del caracol viajero dulceacuícola exótico *M. tuberculata* en México y representa el primer registro de su presencia en el estado de San Luis Potosí. Consideramos que la incidencia real del caracol exótico en el estado es baja, pero debido a su alto potencial de dispersión, podría ser un riesgo para la fauna acuática nativa, ya que es un huésped intermedio de enfermedades parasitarias de aves silvestres y especies de peces.

Palabras clave: especies invasoras, *Melanoides tuberculata*, Rioverde, México

To cite as:

Tinajero R., A. Partida-Pérez y M. P. Bermúdez-González. 2018. Primer registro del caracol viajero invasor *Melanoides tuberculata* (Gastropoda: Thiaridae) en San Luis Potosí, México . *Hidrobiológica* 28 (3): 349-351.

DOI:

ABSTRACT

Background: The species red-rimmed melania *Melanoides tuberculata* Müller, 1774 is native to Asia and Africa. Due to the aquarium trade, its worldwide distribution has widely increased. In Mexico, its presence in the wild has been documented since 1973 in different Mexican states. **Goals:** Document the first record of the presence of the species in the state of San Luis Potosí. **Methods:** During 2015 - 2018, different perennial water bodies were sampled in San Luis Potosí, and the presence or absence of the species was recorded. Photographic images of the exotic snail were taken for taxonomic identification and specimens collected in the study were deposited at the Colección Nacional de Moluscos – Instituto de Biología (UNAM). **Results:** On June 16, 2017, some individuals were found in an area near the town of San Francisco de Asís, municipality of Rioverde. **Conclusions:** This study contributes to the knowledge of the dispersal of the exotic red-rimmed melania in Mexico and is the first record of its presence in the state of San Luis Potosí. We consider that the current incidence of the exotic snail in the state is low. Because of its high dispersion potential, however, it could be a risk for native aquatic fauna, considering its role as an intermediate host of parasitic diseases of wild bird and fish species.

Key words: invasive species, *Melanoides tuberculata*, Rioverde, Mexico

El caracol viajero *Melanoides tuberculata* Müller 1774, también conocido como caracol malasio, es una especie de gasterópodo de agua dulce nativo del sur de Asia y del norte y la costa oeste de África (Peso et al., 2010). El caracol viajero presenta una alta variación fenotípica en términos de escultura de la concha y coloración, la cual puede variar de un color blanco, gris o marrón claro a un color café oscuro, lo que da lugar a más de 27 morfos conocidos para la especie (Facon et al., 2003; Yousif et al., 2009). Se caracteriza por tener una concha alargada en forma cónica (turriteliforme), mide entre 20-50 mm de altura, su espiralización es dextrógira, de apertura ovalada, y el color de su cuerpo es negro. La escultura de la concha consiste en suturas y líneas bien marcadas, las cuales se interceptan con bandas transversales de color café rojizo o marrón, dando un aspecto de retícula. Presenta un opérculo córneo oval con núcleo marginal y protuberancias o papilas en el collar del manto (Burch, 1982; Cuezzo, 2009; Yousif et al., 2009). Este organismo se considera una amenaza para los ecosistemas acuáticos debido a que presenta características intrínsecas que lo convierten en una especie con gran potencial invasor, entre ellas, partenogénesis, viviparidad, alto éxito reproductivo, alta capacidad de dispersión, adaptación a hábitats modificados por el hombre (Facon et al., 2004; Mainka & Howard, 2010; Peso et al., 2010), capacidad de habitar sistemas lén-ticos y lóticos (Pointier & McCullough, 1989) y alta tasa de longevidad, que se puede extender hasta cinco años (Albarrán-Melze et al., 2009; Mainka & Howard, 2010).

Melanoides tuberculata fue introducido en México durante la década de 1960 vía acuarismo (Ramírez-Herrera & Urbano, 2014); sin embargo, el primer registro científico de la especie data de 1973 y procede del estado de Veracruz (Abbott, 1973). Posteriormente, se ha registrado en vida libre en los siguientes estados mexicanos: Chihuahua, Coahuila, Baja California Sur, Durango, Nuevo León, Tamaulipas, Puebla, Tlaxcala, Morelos, Tabasco, Chiapas y Quintana Roo (Contreras-Arqueta et al., 1995; Rangel-Ruiz & Gamboa-Aguilar, 2001; Ascencio et al., 2003).

Entre los años 2015 y 2018 se muestraron, en tres visitas, distintos cuerpos de agua perennes en el altiplano potosino y en la parte media del estado de San Luis Potosí; éstos fueron Guanamé ($22^{\circ} 52' 05''$ N y $101^{\circ} 15' 06''$ O), Venado ($22^{\circ} 56' 01''$ N y $101^{\circ} 05' 42''$ O), Presa de Santa Gertrudis ($23^{\circ} 29' 28''$ N y $101^{\circ} 10' 22''$ O), San Juan del Tuzal ($23^{\circ} 07' 57''$ N y $101^{\circ} 22' 15''$ O), San Tiburcio ($22^{\circ} 14' 41''$ N y $100^{\circ} 14' 45''$ O), Guaxcamá ($22^{\circ} 12' 49''$ N y $100^{\circ} 16' 12''$ O) y Los Peroles ($22^{\circ} 11' 09''$ N y $99^{\circ} 54' 04''$ O). En todos estos sitios no se registró la presencia del caracol viajero, en cambio, sí se reconocieron especies dulceacuícolas del género *Achyhilus* en las localidades de Guaxcamá y Los Peroles. Sin embargo, el 16 de junio de 2017, en un canal del ejido San Francisco de Asís, perteneciente al municipio de Rioverde ($22^{\circ} 06' 52''$ N y $99^{\circ} 53' 00''$ O), fue consignada la presencia de *M. tuberculata*. Este canal presenta un ancho máximo de 3 m, con una profundidad variable (1- 40 cm), una longitud mayor de 20 km y un flujo de agua constante. En una visita realizada el 19 de agosto de 2018 se colectaron ejemplares de forma manual, los cuales fueron fotografiados e identificados como *M. tuberculata* después de considerar las características de la escultura de su concha (Fig. 1). Posteriormente, fueron depositados en la Colección Nacional de Moluscos del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) con el número de catálogo CNMO 7690.

La forma en que llegó el caracol viajero a este sitio se desconoce, sin embargo, en otros sitios es conocido que ingresa a cuerpos de agua, de forma voluntaria o involuntaria, mediante la liberación de caracoles, por intermedio de alguna persona, adheridos al plumaje de las aves o bien al liberar algún pez ornamental. Debido a la capacidad invasora de la especie, consideramos que el impacto ecológico y económico que puede causar la presencia de *M. tuberculata* en la región de Rioverde puede tener graves consecuencias, ya que su dispersión podría incrementarse por arrastre en época de lluvias, o bien por translocaciones directas e indirectas que podrían facilitar su establecimiento en los cuerpos de agua aledaños, donde la presencia de un solo individuo tiene el potencial de formar una población. Consecuentemente, podrían

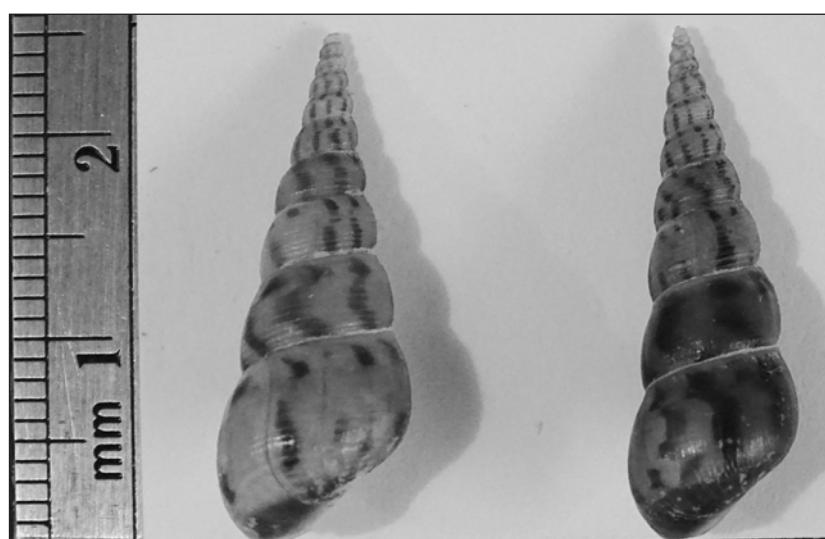


Figura 1. Individuos del caracol viajero exótico (*Melanoides tuberculata* Müller, 1774) encontrados en un canal próximo al poblado de San Francisco de Asís, Rioverde, San Luis Potosí. Fotografía de Romeo Tinajero.

desplazar o disminuir poblaciones de gasterópodos nativos (Pointier & McCullough, 1989). Además, representa un riesgo sanitario, ya que es un huésped intermediario en el ciclo de vida de parásitos que afectan a humanos, ganado y especies silvestres, incluidas aves y peces (Dundee & Paine, 1977; Rader *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2007; Derraik, 2008; Cowie *et al.*, 2009; Pinto & Melo, 2010).

Consideramos pertinente realizar muestreos de gasterópodos en distintos cuerpos de agua en la región de Rioverde con el fin de conocer cuál es la distribución actual del caracol viajero en la región, así como para implementar una estrategia de control, erradicación y seguimiento de la población registrada en el canal del ejido de San Francisco de Asís, y evitar su dispersión a cuerpos de agua aledaños de importancia faunística. La región de Rioverde es considerada un área de importancia para la fauna íctica endémica, ejemplo de ello son la sardinita de Rioverde (*Tampichthys dichromus* Hubbs & Miller, 1977) y la mojarra huasteca (*Nosferatus labridens* Pellegrin, 1903), esta última considerada en peligro de extinción por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Contreras-Balderas & Almada-Villela, 1996).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Edna Naranjo García por su apoyo en la identificación taxonómica del caracol viajero, así como la asignación de número de catálogo para el resguardo de ejemplares en la Colección Nacional de Moluscos. A los revisores anónimos, que con sus acertados comentarios permitieron mejorar de manera sustancial esta publicación, y al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. por el apoyo otorgado en la actividad de campo.

REFERENCIAS

- ABBOTT, R. T. 1973. Spread of *Melanoides tuberculata*. *Nautilus* 87 (1): 29. DOI:10.5962/BHL.PART.1221.
- ALBARRÁN-MELZE, N. C., L. J. RANGEL-RUÍZ & J. GAMBOA-AGUILAR. 2009. Distribución y abundancia de *Melanoides tuberculata* (Gastropoda: Thiaridae) en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, Tabasco, México. *Acta Zoológica Mexicana* 25 (1): 93-104. DOI:10.21829/azm.2009.251599
- ASCENCIO, M. C., R. FLORIDO, A. C. ARQUIETA & A. J. SÁNCHEZ. 2003. Registro del caracol exótico *Thiara* (*Melanoides*) *tuberculata* (Müller, 1774) (Gastropoda: Thiaridae) en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla. *Universidad y Ciencia* 38 (19): 101-103.
- BURCH, J. B. 1982. Freshwater snails (Mollusca: Gastropoda) of North America. Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH. 293 p.
- CONTRERAS-ARQUIETA, A., G. GUJARDO-MARTÍNEZ & CONTRERAS-BALDERAS. 1995. *Thiara* (*Melanoides*) *tuberculata* (Müller, 1774) (Gastropoda: Thiaridae), su probable impacto ecológico en México. *Publicaciones Biológicas*, FCB/UANL, México 8 (1-2): 17-24.
- CONTRERAS-BALDERAS, S. & P. ALMADA-VILLELA. 1996. *Herichthys labridens*. The IUCN Red List of Threatened Species 1996. DOI:T192897A8850510
- COWIE, R. H., R. T. DILLON, D. G. ROBINSON & J. W. SMITH. 2009. Alien non-marine snails and slugs of priority quarantine importance in the United States: A preliminary risk assessment. *American Malacological Bulletin* 27 (1-2): 113-132. DOI: 10.4003/006.027.0210
- CUEZZO, M. G. 2009. Mollusca Gastropoda. In: Domínguez, E. & H. R. Fernández (eds) *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina, pp. 595-629.
- DERRAIK, J. G. 2008. The potential significance to human health associated with the establishment of the snail *Melanoides tuberculata* in New Zealand. *The New Zealand Medical Journal* 121 (1280): 25-32.
- DUNDEE, D. S. & A. PAIN. 1977. Ecology of the snail *Melanoides tuberculata* (Müller), intermediate host of the human liver fluke (*Opisthorchis sinensis*) in New Orleans, Louisiana. *Nautilus* 91 (1): 17-20.
- FACON, B., J. P. POINTIER, M. GLAUBRECHT, C. POUX, P. JARNE & P. DAVID. 2003. A molecular phylogeography approach to biological invasions of the New World by parthenogenetic Thiarid snails. *Molecular Ecology* 12 (11): 3027-3039. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2003.01972.x
- FACON, B., E. MACHLINE, J. P. POINTIER & P. DAVID. 2004. Variation in desiccation tolerance in freshwater snails and its consequences for invasion ability. *Biological Invasions* 6 (3): 283-293. DOI: 10.1023/B:BINV.0000034588.63264.4e
- MAINKA, S. A. & G. W. HOWARD. 2010. Climate change and invasive species: double jeopardy. *Integrative Zoology* 5 (2): 102-111. DOI: 10.1111/j.1749-4877.2010.00193.x
- MITCHELL, A. J., M. S. HOBBS & T. M. BRANDT. 2007. The effect of chemical treatments on red-rim melania *Melanoides tuberculata*, an exotic aquatic snail that serves as a vector of trematodes to fish and other species in the USA. *North American Journal of Fisheries Management* 27 (4): 1287-1293. DOI: 10.1577/M06-252.1
- PESO, J. G., R. E. VOGLE & N. D. PIVIDORI. 2010. Primer registro del gasterópodo invasor *Melanoides tuberculata* (Gastropoda, Thiaridae) en el río Uruguay (Argentina-Brasil). *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 9 (93): 231-235.
- PINTO, H. A. & A. L. D. MELO. 2010. *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Thiaridae) as an intermediate host of *Centrocestus formosanus* (Trematoda: Heterophyidae) in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 52 (4): 207-210. DOI: 10.1590/S0036-46652010000400008
- POINTIER, J. P. & F. McCULLOUGH. 1989. Biological control of the snail hosts of *Schistosoma mansoni* in the Caribbean area using *Thiara* spp. *Acta Tropical* 46 (3): 147-155.
- RADER, R. B., M. C. BELK & M. J. KELEHER. 2003. The introduction of an invasive snail (*Melanoides tuberculata*) to spring ecosystems of the Bonneville Basin, Utah. *Journal of Freshwater Ecology* 18 (4): 647-657. DOI: 10.1080/02705060.2003.9664007
- RAMÍREZ HERRERA, M. & B. URBANO. 2014. Moluscos invasores de México. Conabio. *Biodiversitas* 112: 6-9.
- RANGEL-RUÍZ, L. J. & J. GAMBOA-AGUILAR. 2001. Diversidad malacológica en la región maya: I. Parque Estatal de la Sierra, Tabasco, México. *Acta Zoológica Mexicana* 82: 1-12.
- YOUSIF, F., A. IBRAHIM, S. SLEEM, S. EL-BARDICY & M. AYOUB. 2009. Morphological and genetic analyses of *Melanoides tuberculata* populations in Egypt. *Global Journal of Molecular Science* 4: 112-117.

Hidrobiológica

Índice de autores

Aceves-Medina G.	231	Campa-Córdova Á. I.	287
Acosta R.	179	Camur-Elipek B.	61
Ahumada-Semporal M. A.	265	Capetillo Piñar N.	51
Alejo-Plata M. del C.	147, 265	Carranza-Edwards A.	71, 93
Alencar dos Santos M. J.	335	Carrillo Longoria J. A.	257
Altinoluk-Mimiroglu P.	61	Carvalho-Saucedo L.	313
Álvarez-González C. A.	239	Cassiano Keppeler E.	335
Ángeles López O.	257	Castillo-Páez A.	151
Angulo C.	287	Ceballos-Vázquez B. P.	325
Agundis-Mata C.	287	Cerdeñares Ladrón de Guevara G.	265
Angulo-Campillo O.	231	Cocroft R. B.	157
Arce-Peinado C. A.	325	Cortés-García A.	163
Arellano-Martínez M.	325	Cruz-Escalona V. H.	219
Arredondo-Figueroa J. L.	121	Cruz-Ordóñez S. B.	11
Arzola González J. F.	31	De la Cruz-Agüero G.	301
Ascencio F.	287	de Oliveira Pereira D.	335
Badillo Zapata L.	209	Del Río-Portilla M. Á.	151
Bautista Olivas A. L.	17	Del Rio-Zaragoza O. B.	209
Bermúdez-González M. P.	349	Diarte-Plata G.	301
Bisbal-Pardo C. I.	151	Di Filippo-Herrera D. A.	129
Blanqueto-Manzanero M. D.	1	Escamilla-Montes R.	301
Briceño-Domínguez D. R.	129	Fernández Araizal M. A.	257
Bustamante-González J. D.	163	Fierro-Coronado J. A.	301
Cabrera-Ramírez M. A.	71	Figueroa Lucero G.	37
Camarillo-Coop S.	239	Frías-Quintana C. A.	239
Campos E.	31	Galván-Villa C. M.	83

García-Domínguez F. A.	295, 313	Martínez-Melo A.	83
Gisbert. E.	239	Martínez Y. J.	141
Gómez-Márquez J. L.	265	Mejía-Falla P. A.	219
González-Márquez H.	171	Méndez-Marín O.	239
González-Rodrigo B.	179	Mendoza Cariño D.	17
Granados-Alcantar S.	301	Mendoza Cariño M.	17
Guerrero-Zúñiga L. A.	109	Mendoza-Martínez G. D.	121
Gutiérrez-Benítez O.	191	Moreno-Casasola P.	201
Gutiérrez-González J. L.	295	Nájera-Arzola I. C.	239
Gutiérrez Rubio Y.	31	Navarro-González J. A.	219
Guzmán-Dávalos D.	209	Nuñez A. [†]	103
Guzmán-Murillo M. A.	287	Nuñez J.	103
Hénaut Y.	157	Ortega-Salas A. A.	103
Hernández-Carmona G.	129	Pascual-Jiménez C.	247
Hernández Hernández L. H.	257	Peña E.	239
Hernández-Herrera R. M.	129	Páramo Pérez M. E.	201
Hernández-Rodríguez M.	209	Peralta-Martínez M. de los Á.	171
Herrera-Salvatierra N.	247	Partida-Pérez A.	349
Hernández-Vergara M. P.	11	Pereyra A.	287
Jacob Serra A.	335	Pérez-Campos R. A. A.	247
Jurado-Molina J.	191	Pérez-González R.	31
Kirgiz T.	277	Pérez-Legaspi I. A.	11
Kjelland M. E.	171	Pérez-Rostro C. I.	11
Kobelkowsky A.	37	Pérez-Vega J. A.	247
Lindig-Cisneros R.	201	Plata-Pérez F. X.	121
Lluch-Cota D. B.	295	Quevedo Nolasco A.	17
Luis-Villaseñor I. E.	287	Quintero de Leonardo E.	71
Luna-González A.	301	Rendón S.	103
Marchamalo M.	179	Rocha-Olivares A.	151
Mandujano-Camacho H.	157	Rodríguez-Canul R.	247
Martínez-García R.	239	Rodríguez-Dorantes A.	109
Martín-Manzo M. V.	287	Rodríguez-Gutiérrez M.	163
		Roldan-Heredia A.	191

Romo García S.	171	Tripp-Quezada A.	51
Rubio-Barbosa E.	83	Tripp-Valdez M. A.	51
Rubio-Rodríguez U.	219	Urbano-Alonso B.	147
Ruiz-González L. E.	209	Vásquez D.	179
Ruiz-Verdugo C. A.	301	Vásquez-González A.	121
Salgado García R. L.	295	Vázquez-López H.	301
Sánchez Ávila D.	257	Vega-Cendejas M. E.	1
Santacruz-Ruvalcaba F.	129	Vega-Villasante F.	209
Sarma S. S. S.	109	Vélez-Arellano N.	295, 313
Sergio Ferraudo A.	335	Viana-Castrillón M. T.	121
Sierra-Beltrán A. P.	287	Villalejo-Fuerte M. T.	51, 301
Siqueiros-Beltrones D. A.	141	Viveros-Legorreta J. L.	109
Soares Vieira L. J.	335	Vliet K. A.	157
Springer M.	179	Zamora-Bustillos R.	247
Tas-Divrik M.	277	Zenteno-Galindo E.	287
Tinajero R.	349		
Tintos-Gómez A.	209		
Torres da Silva M.	335		

HIDROBIOLOGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología

VOLUMEN 28

Número 3

2018

Angulo-Campillo O. and G. Aceves-Medina

Two new species of gymnosomatous pteropods from the Gulf of California (Gymnosomata: Pneumodermatidae) 231-237

Nájera-Arzola I. C., C. A. Álvarez-González, C. A. Frías-Quintana, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, O. Méndez-Marín y E. Gisbert

Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) 239-246

Pérez-Campos R. A. A., C. Pascual-Jiménez, N. Herrera-Salvatierra, J. A. Pérez-Vega, R. Zamora-Bustillos y R. Rodríguez-Canul

Factores de riesgo asociados a la transmisión del virus PaV1 en langostas *Panulirus argus* en dos principales zonas de pesca del estado de Yucatán, México 247-255

Carrillo Longoria J. A., D. Sánchez Ávila, L. H. Hernández Hernández, O. Ángeles López y M. A. Fernández Araizal

Reemplazo de harina de pescado con gluten de maíz en dietas de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*): efectos en crecimiento y otros parámetros fisiológicos 257-263

Alejo-Plata M. del C., M. A. Ahumada-Sempoal, G. Cerdaneras Ladrón de Guevara y J. L. Gómez-Márquez

Estructura poblacional y biología reproductiva del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae) capturado en la pesca artesanal de Oaxaca, México 265-275

Tas-Divrik M. and T. Kirgiz

Macrofauna de la Meric River (Turkish Thrace): Composition of the community as related to water quality 277-285

Martín-Manzo M. V., C. Angulo, E. Zenteno-Galindo, A. P. Sierra-Beltrán, C. Agundis-Mata, F. Ascencio, M. A. Guzmán-Murillo, I. E. Luis-Villaseñor, A. Pereyra y Á. I. Campa-Córdova

Eficiencia de lectinas como inmunoindicadores en juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei* (Malacostraca: Penaeidae) 287-294

Vélez-Arellano N., R. Salgado García, F. A. García-Domínguez, D. B. Lluch-Cota, M. T. Sicard y J. L. Gutiérrez-González

Fecundidad en góndolas maduras de *Haliotis fulgens* y *Haliotis corrugata* (Vetigastropoda) 295-300

Escamilla-Montes R., G. Diarte-Plata, C. A. Ruiz-Verdugo, S. Granados-Alcantar, A. Luna-González, H. Vázquez-López, J. A. Fierro-Coronado, G. De la Cruz-Agüero y M. T. Villalejo-Fuerte

Patrones de crecimiento y proporción de sexos de la jaiba *Callinectes bellicosus* (Decapoda: Portunidae) 301-311

García-Domínguez F. A., L. Carvalho-Saucedo and N. Vélez-Arellano

Reproductive cycle of two *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae) beds at different depths at Ensenada de La Paz, Gulf of California, Mexico 313-323

Arce-Peinado C. A., M. Arellano-Martínez y B. P. Ceballos-Vázquez

Ciclo reproductivo de la almeja roñosa *Chione undatella* en las costas de la región minera de Santa Rosalía, Baja California Sur, México 325-334

Cassiano Keppeler E., A. Jacob Serra, L. J. Soares Vieira, J. de Oliveira Pereira, M. Torres da Silva, M. J. Alencar dos Santos and A. Sergio Ferrando

Seasonal fluctuations of Rotifera in a tropical lake in Amazonia (Acre River floodplain, Brazil) 335-347

NOTAS CIENTÍFICAS

Navarro-González J. A., U. Rubio-Rodríguez, P. A. Mejía-Falla y V. H. Cruz-Escalona

Descripción morfológica del aparato bucal de adultos de *Urotrygon nana* y *U. rogersi* (Urotrygonidae): diferencias intraespecíficas e interespecíficas 349-351

Índice del volumen

353-354

Índice de autores

355-357